

Aus dem Institut für Phytopathologie
der Justus Liebig-Universität Gießen

Untersuchungen zur Thermotheapie
von Steinobstvirosen

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Diplomgärtner Helmut Jacob
geboren in Leipzig

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Phytopathologie
der Justus Liebig-Universität Gießen

Untersuchungen zur Thermotheapie
von Steinobstvirosen

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Doktorgrades
der Landwirtschaftlichen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Diplomgärtner H e l m u t J a c o b
geboren in Leipzig

Gießen 1970



D e k a n : Prof. Dr. R. Waßmuth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Großmann
(Universität Hohenheim)

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Gruppe

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Dezember 1970

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. <u>Einleitung</u>	1
1.1. Problemstellung	1
1.2. Literaturübersicht	4
1.3. Beschreibung der untersuchten Viruskrankheiten	14
1.3.1. Die Ringfleckkrankheiten der Kirsche	14
1.3.1.1. Nekrotisches Ringfleckenvirus (NRV)	15
1.3.1.2. Chlorotisches Ringfleckenvirus (CRV)	17
1.3.1.3. Chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus (CNRV)	18
1.3.2. Die Pfeffinger Krankheit der Kirsche	19
1.3.3. Triebstauchung des Pfirsichs durch das Tomatenschwarzringfleckenvirus	20
2. <u>Material und Methoden</u>	21
2.1. Virusherkünfte	21
2.2. Anzucht der Versuchspflanzen	22
2.2.1. Prüfung der Unterlagen auf ihren Gesundheitszustand	23
2.2.2. Anzucht viruskranker Versuchspflanzen	25
2.2.3. Anzucht virusfreier Versuchspflanzen	31
2.3. Testpflanzen, Testverfahren, Testsicherheit	31
2.3.1. Testpflanzen	32
2.3.2. Testverfahren	32
2.3.2.1. "Shiروفуген"-Test	33
2.3.2.2. Gewächshaustestung mit Gehölzindikatoren	33
2.3.2.3. Gewächshaustestung mit krautigen Pflanzen	34
2.3.3. Testsicherheit	35

3. <u>Weiterkultur von Pflanzenteilen nach einer Wärme-</u> <u>behandlung</u>	40
3.1. Reiserpfropfung	40
3.2. Okulation	40
3.3. Stecklingsbewurzelung	41
3.4. Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung)	46
3.5. Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro	47
3.5.1. Sterilisation, Präparation und Kultur- <u>bedingungen</u>	49
3.5.2. Zusammensetzung des Nährbodens	51
3.5.3. Triebspitzenwachstum in Abhängigkeit von	
der Nährbodenzusammensetzung	53
3.5.4. Pfropfung auf gesunde Unterlagen	58
4. <u>Warmwasserbehandlung viruskranker Pfropfreiser (Kurz-</u> <u>zeittherapie)</u>	59
4.1. Wärmetoleranz der Pfropfreiser	59
4.2. Möglichkeiten der Virusinaktivierung	60
5. <u>Behandlung viruskranker Steinobstpflanzen in einer</u> <u>Wärmekabine (Langzeittherapie)</u>	65
5.1. Technische Einrichtung der Wärmekabine	65
5.2. Der Einfluß der Temperatur auf die Mobilität der	
Viren	67
5.2.1. Transportgeschwindigkeit des NRV bei	
verschiedenen Temperaturen	67
5.2.2. Der Einfluß der Temperatur auf die Virus-	
übertragung	70
5.3. Versuche zur Viruseliminierung	72
5.3.1. Wärmetoleranz der Steinobstpflanzen	72
5.3.2. Der Einfluß verschiedener Faktoren auf	
den Wuchsverlauf der Bäume	74
5.3.2.1. Der Einfluß des Rückschnittes	74
5.3.2.2. Unterlagen- und Sorteneinflüsse	76
5.3.2.3. Der Einfluß der Virusinfektion	77
5.3.2.4. Der Einfluß der Stammlänge	78
5.3.2.5. Der Einfluß von Phytohormonen	79

	<u>Seite</u>
5.3.3. Gewinnung virusfreier Sproßteile nach einer Wärmebehandlung (Langzeittherapie)	85
5.3.3.1. Isolation von Knospen	85
5.3.3.2. Bewurzelung von Stecklingen	87
5.3.3.3. Triebspitzenpfropfung (Grün- pfropfung)	90
5.3.3.4. Triebspitzenkultur in vitro	94
5.3.4. Behandlung von Pflanzen während der phy- siologischen Ruheperiode	97
6. <u>Diskussion</u>	99
7. <u>Zusammenfassung</u>	125
8. <u>Schriftenverzeichnis</u>	129

1. EINLEITUNG

1.1. Problemstellung

Die Viruskrankheiten oder Virose der Hauptnahrungspflanzen, wie die der Kartoffel und der Beta-Rübe, des Reises und des Zuckerrohres, sind schon seit Jahrzehnten Objekte wissenschaftlicher Forschung. Eine intensive wissenschaftliche Bearbeitung der Virose der Obstgewächse setzte dagegen erst vor zehn bis fünfzehn Jahren ein. Aus diesem Grunde sind auch die Kenntnisse auf dem Gebiet der Obstvirose noch immer sehr lückenhaft.

In der vergangenen Zeit wurde eine Fülle von Viruskrankheiten der Obstgewächse in vielen Ländern beobachtet, untersucht und anhand ihrer Symptome beschrieben. Mit der Zahl der beschriebenen und untersuchten Virose nahm aber die Zahl der beteiligten Viren nicht in gleichem Maße zu, da viele Krankheiten den gleichen Viren bzw. Stämmen gleicher Viren zugeordnet werden konnten. Diese Entwicklung ergab sich aus der Übertragbarkeit der Viren von Obstgehölzen auf krautige Wirtspflanzen und der damit verbundenen Möglichkeit ihrer serologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchung. Einschränkend muß jedoch gesagt werden, daß es bei verschiedenen Obstvirose noch nicht gelungen ist, krautige Wirtspflanzen aufzufinden. Große Lücken in unserem Wissen bestehen auch hinsichtlich der Übertragbarkeit und der Virusreservoir bzw. Alternativwirte. Auch wird die Frage nach resistenten Sorten und die Ausnützung von Prämunitionerscheinungen nach einer Infektion mit schwach pathogenen Virusstämmen in Zukunft an Bedeutung gewinnen (POSNETTE 1968).

In jüngster Zeit hat sich ergeben, daß neben Viren auch Mykoplasmen als Pathogene pflanzlicher Erkrankungen in Betracht kommen. Nach CAMPBELL (1970) muß damit gerechnet werden, daß auch verschiedene Krankheiten der Obstgehölze, die bisher den Viruskrankheiten zugeordnet wurden, möglicherweise durch Mykoplasmen verursacht werden. GIANOTTI et al. gelang 1968 der Nachweis, daß die Hexenbesenkrankheit des Apfels auf Mykoplasmen zurückzuführen ist.

Viruskrankheiten wirken sich hauptsächlich auf die vegetative und generative Leistung der Obstgehölze aus. So sind bei kranken Obstgehölzen Trieb- und Dickenwachstum, aber auch Ertrag und Ertragssicherheit mehr oder weniger stark beeinträchtigt. Am Institut für Obstbau der Justus Liebig-Universität Giessen (Direktor: Prof. Dr. W. Gruppe) wird seit einigen Jahren das Steinobst züchterisch bearbeitet. Ein Hauptanliegen des Institutes besteht in der Züchtung schwachwachsender Kirschenunterlagen, um zu kleinkronigen Bäumen mit niedrigem Stamm zu gelangen, wie sie aus dem Apfelanbau schon seit langem bekannt sind. Eine Vielzahl von Steinobstarten, Kultur- und Wildformen, sowie Steinobstsorten wurden aus europäischen und außereuropäischen Gebieten zusammengetragen, um züchterischen Zwecken zu dienen. Dieses Pflanzenmaterial wurde in den vergangenen drei Jahren an der hessischen Virusteststation in Kassel-Oberzwehren auf die verschiedenen Viruskrankheiten des Steinobstes geprüft. Aufgrund dieser Tests mußte festgestellt werden, daß einzelne Steinobstherkünfte überaus stark viruskrank waren. Auffallend häufig wurden Viruskrankheiten an Kirschen beobachtet, wobei samen- und pollenübertragbare Viren aus der Gruppe der Kirschen-Ringflecken-viren dominierten. Es schien jedoch kaum sinnvoll zu sein, Züchtung mit viruskrankem Material zu betreiben, da der Züchter keine oder nur sehr zweifelhafte Aussagen über den Erfolg oder Mißerfolg seiner neuen Zuchtprodukte machen kann. Auch ist aus der Praxis bekannt, daß verschiedene Kultursorten der Kirsche als totalverseucht angesehen werden müssen. Da der Weg seiner Selektion mit den verschiedenen Diagnose-Methoden in diesem Falle nicht gangbar ist, muß durch direkte therapeutische Maßnahmen versucht werden, virusfreies Ausgangsmaterial zu schaffen.

Direkte und praxisreife Schutzmaßnahmen der Obstgehölze gegen Viruserkrankungen sind bisher nur mit ungenügendem Erfolg angewendet worden. Die Bekämpfung der Vektoren, wie Blattläuse, Milben, Zikaden und Nematoden, sowie die Ausschaltung der Alternativwirte, die als Nahrungspflanzen der Vektoren oder - sofern das Virus pollenübertragbar ist - unmittelbar als In-

fektionsquellen dienen, ist schwierig und zudem mit einem großen Aufwand verbunden. Zwar können die Gehölze durch die Vernichtung der Vektoren wirksam geschützt werden (TAYLOR und CHAMBERS, 1969), dies trifft aber nur für vektorenübertragbare Viren zu und ist nur in besonderen Fällen vertretbar.

Der enge Zusammenhang der Viren mit dem Metabolismus der Wirtspflanze erlaubt vorläufig keine direkten chemotherapeutischen Maßnahmen. Aus diesem Grunde wurde zum Schutz der Obstgehölze gegen Viruskrankheiten das Hauptgewicht auf indirekte Methoden gelegt. Der bisherige Weg bestand darin, den Gesundheitszustand der Pflanze mit Hilfe verschiedener geeigneter Indikatoren zu testen, die in der Regel auch weniger pathogene und latente Virosen anzeigen. Sofern sich Pflanzen als virusfrei erwiesen, konnten sie als Mutterpflanzen für weitere Nachzuchten Verwendung finden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der direkten Bekämpfung der Viren. Sie setzt sich die Heilung einer Pflanze oder eines ihrer Teile durch Eliminierung der Viren zum Ziel. Aus den bereits genannten Gründen wurden diese Untersuchungen an Pflanzen der Gattung Prunus durchgeführt.

Als direkte Bekämpfungsmethode hat die Thermotherapie Bedeutung erlangt. An Obstbäumen wurde sie erstmals von KUNKEL (1936) erfolgreich angewendet, der mit ihrer Hilfe Pfirsichbäume, die unter der virusbedingten Vergilbungskrankheit litten, heilen konnte. In den letzten Jahren wurde der Thermotherapie wieder eine erhöhte Aufmerksamkeit zugemessen, als man erkannte, daß viele Obstarten und -sorten latent an Viren erkrankt waren. Dies gilt insbesondere für die vegetativ vermehrbaren Unterlagen des Kernobstes, von denen man heute teilweise annehmen muß, daß ihre an sich erwünschte Schwachwüchsigkeit teilweise nicht genetisch, sondern durch latente Viren bedingt ist. WELSH und NYLAND (1965) unterzogen die schwachwachsenden Apfelunterlagen M IX, M IV und M VII einer Wärmebehandlung und konnten virusfreie, von den latenten Apfelviren

geheilte Individuen gewinnen. Die geheilten Unterlagen wiesen nach der Behandlung ein wesentlich stärkeres Wachstum auf. Dies ging soweit, daß Wuchsunterschiede zwischen den drei Unterlagen kaum noch zu erkennen waren.

CAMPBELL (1965) äußert die Vermutung, daß die Inkompatibilitätserscheinungen der Quittenunterlage Cydonia spp. gegenüber Birnen-Kultursorten auf latente Viren zurückzuführen ist.

Die Thermotherapie ermöglicht es, gesunde Pflanzen aus kranken zu gewinnen, zum anderen können aber auch mit ihrer Hilfe Virosen komplexer Natur getrennt und dadurch genauer diagnostiziert werden. CAMPBELL (1968) konnte durch Prüfung von Gewebebereichen aus verschiedenen Teilen der während der Wärmebehandlung gewachsenen Triebe, komplexe Apfelviren trennen und die Einzelkomponenten dadurch genauer erfassen.

1.2. Literaturübersicht

Da alle Obstgehölze heterozygot sind, ist bei ihnen nur eine asexuelle, vegetative Vermehrungsweise möglich, sofern eine Kultursorte oder Unterlage erbgleich weitervermehrt werden soll. Die vegetative Vermehrungsweise ist aber gleichzeitig einer der Gründe für die rasche Verbreitung der Viruskrankheiten. Seit Jahren werden in den verschiedensten Gebieten der Erde große Anstrengungen unternommen, Viruskrankheiten erfolgreich zu bekämpfen und in ihrer Ausbreitung einzudämmen. Die direkte Bekämpfung, d. h. das Heilen einer Pflanze oder zumindest einzelner Teile von ihr, stellt eine Möglichkeit dann dar, wenn von einem Klon oder Typ nur viruskranke Individuen existieren.

Über verschiedene Methoden zur Gewinnung virusfreier Pflanzen oder Pflanzenteile wird in der Literatur berichtet. So konnten WEATHERS und CALAVAN (1959) in Versuchen mit Citrus feststellen, daß die Embryonen apomiktischer Formen viruskranker Pflanzen weitgehend virusfrei waren. Alle Versuche, die bisher mit

den verschiedensten Chemotherapeutica an pflanzlichen Viren unternommen wurden, zeigten keine befriedigenden Ergebnisse (MATTHEWS und SMITH, 1955; MILLER und GARREN, 1966; PINE, 1968; DIJKSTRA und van RENSEN, 1968). Erfolgreicher waren dagegen Experimente zur Meristem- und Triebspitzenkultur (MOREL, 1964; QUAK, 1966; HOLMES, 1955, 1956 u. a.), die besonders bei perennierenden Zierpflanzen Bedeutung erlangte. Abutilon striatum konnte vom Abutilon-Mosaikvirus befreit werden, sofern mehrmals hintereinander die Blätter von der Pflanze entfernt wurden (KEUR, 1934; HOLMES, 1967).

Die größte Bedeutung erlangte allerdings die Thermotherapie, die zu guten Ergebnissen bei den verschiedensten Kulturpflanzen führte. NYLAND und GOHEEN (1969) haben in einer Literaturzusammenstellung zeigen können, daß bisher weit über hundert verschiedene Viruskrankheiten an Kulturpflanzen erfolgreich durch eine Thermotherapie bekämpft werden konnten. Nur in seltenen Fällen gelang es bisher, komplette Pflanzen mit Sproß- und Wurzelsystem von den Viren zu befreien. Wesentlich bessere Erfolge wurden dann erzielt, wenn einzelne Sproßteile, wie Apikalmeristeme, Triebspitzen oder Knospen nach einer Wärmebehandlung isoliert und weiterkultiviert wurden (BELKENGREN und MILLER, 1962; CAMPBELL, 1962; ELLENBERGER, 1960; HAKKAART und QUAK, 1964; van OS, 1964; QUAK, 1966; HOLLINGS und STONE, 1968, 1970 u.a.).

KUNKEL (1936) verwendete zwei verschiedene Methoden zur Heilung der Gelbsucht an Pfirsichen (peach yellow): Eine kurzfristige Therapie mit höheren Temperaturen und eine langfristige mit niedrigeren Temperaturen. Bei der erstgenannten Methode tauchte er Pfropfreiser zur Zeit der Vegetationsruhe 10 Minuten in 50°C warmes Wasser. Mit dieser Methode - allgemein als Warmwassermethode bezeichnet - konnte er die Viren in den Reisern inaktivieren, ohne die Reiser selbst stärker zu schädigen. Nach der zweiten Methode kultivierte er die viruskranken Bäumchen zur Zeit des vollen Wachstums bei 34-36°C

etwa 2 bis 4 Wochen lang. Seit diesen Anfängen wird grundsätzlich zwischen einer Kurzzeittherapie und einer Langzeittherapie unterschieden. Die Kurzzeittherapie bei höheren Temperaturen erfolgt mittels warmen Wassers, seltener mittels warmer Luft. Sie setzt eine echte Virusinaktivierung voraus und heilt nur Virosen, welche durch leicht inaktivierbare Viren verursacht werden. Meist werden Pflanzenteile, wie Ppropfreiser, Stecklinge oder einzelne Knospen, behandelt und dann durch Ppropfung auf gesunde Unterlagen oder durch Eigenbewurzelung weiterkultiviert. Da durch Wasser eine rasche Wärmedurchdringung der Pflanzenteile erfolgt, gibt man ihm bei der Kurzzeittherapie den Vorzug gegenüber warmer Luft, obwohl auch mit einer kurzfristigen Warmluftbehandlung gewisse Erfolge erzielt werden konnten (KEGLER, 1959). Die Langzeittherapie bei niedrigeren Temperaturen erstreckt sich oft über mehrere Wochen. Die in Töpfen angezogenen Pflanzen werden in Spezialräumen bei Temperaturen zwischen 34 und 40°C kultiviert. Nach erfolgter Wärmebehandlung werden den Pflanzen meist nur einzelne Teile entnommen und weiterkultiviert.

Wiederholt wird in der Literatur darauf hingewiesen, daß einzelne Virosen durch eine Kurzzeitbehandlung nicht geheilt werden konnten, eine Langzeitbehandlung aber gute Erfolge zeitigte. In den Tab. 1 und 2 sind alle bisher veröffentlichten Ergebnisse einer Kurzzeit- und Langzeittherapie an Obstgehölzen aufgeführt. Sie sollen einen Überblick über bisher erfolgte Versuche zur Thermotherapie geben.

Tabelle 1: Verzeichnis bisher erfolgter Warmwasserbehandlungen
(Kurzzeittherapie) an Obstgehölzen

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil	Autoren
<u>a) Wärmebehandlung mit Erfolg</u>					
Apple mosaic	Apfel	10 Min.	70	Reis	KEGLER, 1959
Cherry line pattern com- plex	Kirsche	3 Std.	46	Reis	GUALACCINI, 1960
Cherry necro- tic rusty mottle	Kirsche	10 Min.	50	Reis	NYLAND, 1959
Grapevine flavescense doree	Rebe	3 Tage	30	Steck- holz	CAUDWELL, 1966
Mulberry dwarf	Maulbeere	40 Min.	55	Reis	TAHAMA, 1964
Peach phony	Pfirsich	40 Min.	48	Reis	HUTCHINS, RUE, 1939
Peach little	Pfirsich	3 Min.	50	Reis	KUNKEL, 1936
Peach roset- te	Pfirsich	10 Min.	50	Reis	KUNKEL, 1936
Peach X-di- sease	Pfirsich	6 Min.	50	Reis	HILDEBRAND, 1941
Peach yellow leafroll	Pfirsich	10 Min.	50	Reis	NICHOLS, NYLAND, 1952
Peach yellows	Pfirsich	10 Min.	50	Reis	KUNKEL, 1936
Prune dwarf	Pflaume	30 Std.	35	Reis	CHRISTOFF, 1958
Prunus necro- tic ringspot	Kirsche	36 Std.	35	Reis	EHLERS, 1957
<u>b) Wärmebehandlung ohne Erfolg</u>					
Cacao swollen shoot	Kakao	25 Min.	50	Reis	MURRAY, SWAR- BRICK, 1959
Fig mosaic	Feige	90 Min.	50	Reis	SUTIČ, BLAGO- JEWIČ, 1964
Peach mosaic	Pfirsich	32 Min.	50	Reis	KUNKEL, 1936
Quince sooty ringspot	Quitte	8 Min.	50	Reis	POSNETTE et al., 1962

Fortsetzung Tabelle 1:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil	Autoren
Raspberry vein chlorosis	Himbeere	15 Min.	50	Rute	CHAMBERS, 1961
Raspberry yellows	Himbeere	15 Min.	50	Rute	CHAMBERS, 1961
Vaccinium (Blueberry) ringspot	Heidel- beere	60 Min.	60	Pflanze	STRETCH, 1965

Tabelle 2: Verzeichnis bisher erfolgter Warmluftbehandlungen
(Langzeittherapie) an Obstgehölzen

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur 8C	Pflanzen- teil 2)	Autoren	
a) <u>Wärmebehandlung mit Erfolg</u>						
Almond mosaic	Mandel	3-4 Wo.	38	Knospe	MAJORANA, MARTELLI, 1966	
"	"	Mandel	3 Mo.	Pflanze	" "	
Apple chloro- tic leafspot	Apfel	7 Tg.	38	tip	WELSH, NYLAND, 1965	
"	"	Apfel	34-86 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
"	"	Apfel	20-35 Tg.	37	tip	CAMPBELL, 1961,
				Knospe	1964, 1968	
"	"	Apfel	30 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
Apple mosaic	Apfel	27-40 Tg.	38	tip	POSNETTE, CROPLEY, 1956	
"	"	Apfel	40 Tg.	38	tip	HUNTER et al., 1958
"	"	Apfel	30-40 Tg.	38	tip	THOMSEN, 1968
"	"	Apfel	38 Tg.	38	tip	CAMPBELL, 1964
Apple rubbery wood	Apfel	20-80 Tg.	37	tip	POSNETTE et al., 1962	
"	"	Apfel	40 Tg.	38	tip	CAMPBELL, 1962, 1968
"	"	Apfel	40 Tg.	38	tip	CAMPBELL, BEST, 1963

Fortsetzung Tabelle 2:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil	Autoren
Apple rubbery wood	Apfel	40-60 Tg.	37	tip Knospe	WELSH, NYLAND, 1965
" "	Apfel	30-50 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
Apple stem pitting	Apfel	20-100 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
" "	Apfel	40-60 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
" "	Apfel	30-70 Tg.	37	tip	CAMPBELL, BEST, 1963
" "	Apfel	30-50 Tg.	37	tip Knospe	WELSH, NYLAND, 1965
Apple spy 227 epinasty	Apfel	30-50 Tg.	37	tip Knospe	CAMPBELL, BEST, 1963
" "	Apfel	30-70 Tg.	37	tip Knospe	WELSH, NYLAND, 1965
" "	Apfel	30-50 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
" "	Apfel	40-60 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
Apple spy 227 decline	Apfel	30 Tg.	37	tip	CAMPBELL, BEST, 1963
" "	Apfel	30-60 Tg.	37	tip	WELSH, NYLAND, 1965
Apple latent virus (Platy- carpa dwarf)	Apfel	20-30 Tg.	37	tip	CAMPBELL, 1961, 1962
" "	Apfel	20-60 Tg.	37	tip	CAMPBELL, BEST, 1963
Apple latent virus (Platy- carpa scaly bark)	Apfel	20-30 Tg.	37	tip	CAMPBELL, 1961, 1968
" "	Apfel	20-40 Tg.	37	tip	CAMPBELL, BEST, 1963
Apple spy 227 lethal	Apfel	20-40 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
Apple Mc.In- tosh pucker (leaf (diebak)	Apfel	50 Tg.	37	Knospe	WELSH, NYLAND, 1965

Fortsetzung Tabelle 2:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur C	Pflanzen- teil 2)	Autoren
Apple leaf pattern	Apfel	50 Tg.	37	Knospe	WELSH, NYLAND, 1965
Apple bark necrosis	Apfel	50 Tg.	37	Knospe	WELSH, NYLAND, 1965
Apple witches' broom	Apfel	30 Tg.	37	tip	GUENGERICH, MILLIKAN, 1964
Cherry green- ring mottle	Kirsche	2 Wo.	38	tip	NYLAND, 1964
Cherry mild rusty mottle	Kirsche	2 Wo.	38	tip	NYLAND, 1964
Cherry little	<u>Prunus</u>	3 Wo.	38	tip	NYLAND, REEVES, 1962
Cherry ring- spot	<u>Prunus</u>	17-25 Tg.	38	tip	NYLAND, 1960
Citrus gree- ning	<u>Citrus</u>	28 Tg.	40	Knospe	McCLEAN, 1969
Citrus infec- tious varie- gation	<u>Citrus</u>	30 Tg.	38	Knospe	MAJORANA, 1966
Citrus pso- rosis virus	<u>Citrus</u>	86-100 Tg.	40	Knospe	GRANT, 1957
Citrus stub- born	<u>Citrus</u> ³⁾	1,5 Std.	51	Knospe	OLSON, ROGERS, 1969
Citrus triste- za virus	<u>Citrus</u>	70-360 Tg.	40	Knospe Pflanze	GRANT, 1957
" "	<u>Citrus</u>	30-70 Tg.	38	Knospe	GRANT, JONES, NORMAN, 1960
" "	<u>Citrus</u>	60 Tg.	38	Knospe	DESJARDINS, 1957
Citrus yellow shoot	<u>Citrus</u> ³⁾	40 Min.	50	Knospe	LIN, LO, 1965
Fig mosaic	Feige	25-40 Tg.	38	Knospe Pflanze	MARTELLI, CICC- ARONE, 1964
" "	Feige	30-40 Tg.	38	Knospe	CASALICCIO, 1964
Gooseberry veinbanding	<u>Ribes</u>	14 Tg.	35	Steckl.	JONES, VINE, 1968

Fortsetzung Tabelle 2:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil 2)	Autoren
Grapevine fanleaf (Ara- bis mosaic strain)	Rebe	20-100 Tg.	35	Knospe Steckl.	GALZY, 1963, 1966
Grapevine fanleaf	Rebe	40-60 Tg.	36	Steckl.	GIFFORD, HEWITT, 1961
Grapevine asteroid mosaic	Rebe	6 Wo.	38	Steckl.	GOHEEN et al., 1965
Grapevine cor- ky bark	Rebe	14 Wo.	38	Steckl.	GOHEEN et al., 1965
Grapevine leafroll	Rebe	55 Tg.	38	Steckl.	HEWITT, 1964
"	Rebe	6-10 Wo.	38	Steckl.	GOHEEN et al., 1965
Grapevine mosaic	Rebe	4-5 Wo.	38	Steckl.	HEWITT, 1962
Grapevine veinbanding	Rebe	4-5 Wo.	38	Steckl.	HEWITT, 1962
Grapevine yellow vein	Rebe	6 Wo.	38	Steckl.	GOHEEN, 1969
Peach green mottle	Pfirsich	15-39 Tg.	37	tip	ELLENBERGER, 1960
Peach muir dwarf	Pfirsich	3 Wo.	38	Pflanze	NYLAND, 1960
Peach necro- tic leafspot	Pfirsich	3 Wo.	38	tip	NYLAND, 1960
Peach ring- spot virus	Pfirsich	17-24 Tg.	38	tip	NYLAND, 1957
Peach stubby twist	Pfirsich	5 Wo.	38	tip	NYLAND, GOHEEN, 1969
Peach yellow	Pfirsich	24 Tg.	35	Pflanze	KUNKEL, 1935, 1936
Pear bark necrosis	Birne	3-4 Wo.	37	tip	POSNETTE et al., 1962

Fortsetzung Tabelle 2:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil 2)	Autoren
Pear ring pattern mosaic	Birne	3 Wo.	37	tip	THOMSEN, 1968
Pear stony pit	Birne ³⁾	10 Min.	70	Reis	CHRISTOFF, 1958
Pear vein yellows	Birne	20-40 Tg.	37	tip	POSNETTE et al. 1962
" "	Birne	30-50 Tg.	37	tip	NYLAND, 1964
" "	Birne	40 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
" "	Birne	40-60 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
Plum narrow striped varie- gation	Pflaume	15-39 Tg.	37	tip	ELLENBERGER, 1960
" "	Pflaume	30-50 Tg.	37	tip	NYLAND, 1964
Plum pox (Sharka)	Pflaume	20-40 Tg.	37	tip	KEGLER, 1967
Plum stunt	Kirsche	2 Wo.	38	tip	NYLAND, 1960
Prune dwarf	Pfirsich	17 Tg.	38	tip	NYLAND, 1960
Prunus necro- tic ringspot	Kirsche	17 Tg.	38	tip	NYLAND, 1960
Prunus necro- tic ringspot (apple mosaic strain)	Malus	20 Tg.	37	tip	THOMSEN, 1968
Quince stunt	Quitte	3-4 Wo.	37	tip	POSNETTE et al., 1962
Raspberry leaf mottle	Himbeere	1-4 Wo.	35	Steckl.	CHAMBERS, 1954
Raspberry leaf- spot	Himbeere	1-4 Wo.	35	Steckl.	CHAMBERS, 1954
Raspberry la- tent virus	Himbeere	1-4 Wo.	35	Steckl.	CHAMBERS, 1954
Raspberry virus	Himbeere	75 Tg.	37	Steckl.	BOLTON, TURNER, 1962
Raspberry mo- saic, heat labile compo- nents	Himbeere	4 Tg.	38	Steckl.	CONVERSE, 1963

Fortsetzung Tabelle 2:

Krankheit	Wirts- pflanze	Dauer ¹⁾	Tempe- ratur °C	Pflanzen- teil 2)	Autoren
Rubus stunt	Himbeere	?	46	?	THUNG, 1952
Vaccinium fal- se blossom	<u>Vaccinium</u>	8 Tg.	42	Pflanze	KUNKEL, 1945
b) <u>Wärmebehandlung ohne Erfolg</u>					
Apple virgi- nia crab decline	Apfel	30 Tg.	38	tip	WELSH, NYLAND, 1965
Cherry mottle leaf	Kirsche	5 Wo.	38	tip	NYLAND, GOHEEN, 1969
Citrus xylop- sorsis	<u>Citrus</u>	75 Tg.	35	Knospe	GRANT et al., 1960
Mulberry mo- saic	Maulbeere	21 Tg.	40	?	RAYCHAUDAUARI et al., 1965
Peach calico	Pfirsich	40 Tg.	37	tip	CHAMBERLAIN et al., 1957
Plum bark- split	Pflaume	39 Tg.	37	tip	ELLENBERGER, 1960
Raspberry leaf curl	Himbeere	28 Tg.	37	Steckl.	STACE-SMITH, 1962
Raspberry mo- saic, heat stable com- ponents	Himbeere	90 Tg.	37	Steckl.	STACE-SMITH, 1960

1) Tg. = Tage, Wo. = Wochen, Mo. = Monat

2) tip = Triebspitze, Steckl. = Steckling

3) Warmluft-Kurzzeittherapie

Die eigenen Untersuchungen wurden mit vier verschiedenen Virus-krankheiten des Steinobstes durchgeführt. Wir wählten hierfür die Nekrotische- und Chlorotische Ringfleckenkrankheit, sowie

die Pfeffinger Krankheit der Kirsche und die viröse Triebstauchung des Pfirsichs. Gesicherte Angaben für eine erfolgreiche Anwendung der Thermotheapie bestehen bisher nur für die Nekrotische Ringfleckenkrankheit der Kirsche (NYLAND, 1960). Für die Chlorotische Ringfleckenkrankheit gibt es in der Literatur nur einzelne, bedingt zuverlässige Hinweise, während über die zwei letztgenannten Krankheiten keinerlei Versuchsergebnisse vorliegen.

1.3. Beschreibung der untersuchten Viruskrankheiten

1.3.1. Die Ringfleckenkrankheiten der Kirsche

Die Ringfleckenkrankheiten der Kirsche werden durch Viren verursacht, deren gemeinsames Merkmal die Erzeugung von Gummi-
fluß und Nekrosen um eingesetzte Knospen oder Rindenstücke an Trieben der Sorte "Shiroyugen" von Prunus serrulata Lindl. ist (KEGLER, 1968). Es ist eine nekrotisch-hyperergische Abwehrreaktion der Testpflanze gegenüber viruskrankem Gewebe. Zu den Ringfleckenkrankheiten zählen das nekrotische (NRV), das chlorotische (CRV) und das chlorotisch-nekrotische (CNRV) Ringfleckenvirus. Diese drei Viren sind nicht allein auf die Kirsche beschränkt, auch von anderen Obst- und Ziergehölzen konnten sie isoliert und im serologischen Test identifiziert werden (ALLEN, 1963, 1964; WAGNON et al., 1966; KIRKPATRICK et al., 1967; BAUMANN, 1968; FULTON, 1968a + b; KIRKPATRICK, 1968).

FULTON (1968b) schlägt vor, diese Viren der "ILAR"-Gruppe zuzuordnen, deren Bezeichnung von ihren charakteristischen Merkmalen isometrisch, labil und Ringflecken abgeleitet wird. Charakteristisch für die "ILAR"-Viren ist, daß sie sehr schnell durch oxydierende Substanzen im Blattsaft inaktiviert werden; ihre Beständigkeit in vitro ist auf wenige Stunden begrenzt. Morphologisch stellen sie kleine spärliche Partikel dar; ihre Größenordnung liegt zwischen 20 und 30 m μ (DE SEQUEIRA, 1966).

In Abb. 1 sind die charakteristischen Merkmale der Ringflecken-
viren dargestellt.

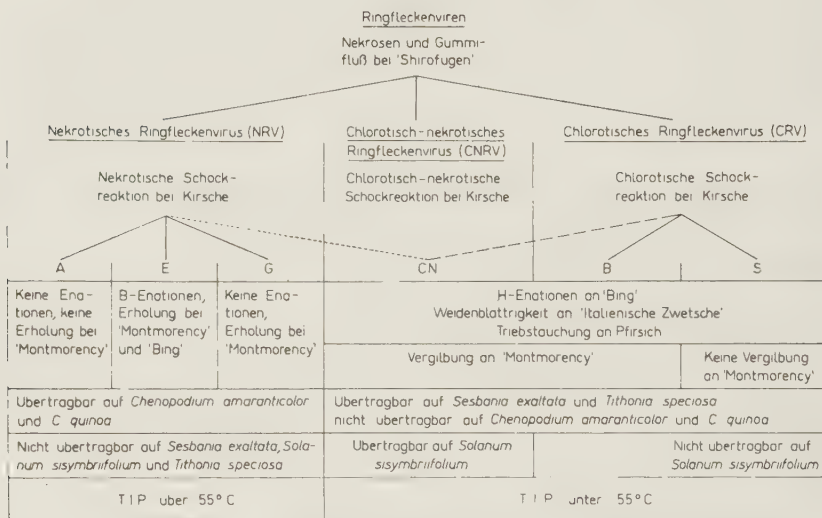


Abb. 1: Die Ringfleckenviren der Kirsche (nach KEGLER, 1965 b)

1.3.1.1. Nekrotisches Ringfleckenvirus (NRV)

Das nekrotische Ringfleckenvirus (NRV) wurde in vielen Süß- und Sauerkirschsorten, Wild- und Zierkirschen nachgewiesen. Die Symptomausbildung kann allerdings sehr unterschiedlich sein. FULTON (1957, 1958) beschrieb die Eigenschaften dreier Isolate (A,E,G), die serologisch verwandte Stämme darstellen, auf der Sauerkirschsorte "Montmorency" sich jedoch symptomatologisch wie folgt unterscheiden:

Isolat A: Starke Schocksymptome, Spitzennekrosen, starke Schädigung der Bäume ohne Erholphase, keine Enationen auf der Blattunterseite.

Isolat E: Schocksymptome und Spitzennekrosen, Erholphase im nächsten Jahr, Blatt-Enationen auf der Blattunterseite.

Isolat G: Schocksymptome und Spitzennekrosen, Erholphase im nächsten Jahr, keine Enationen.

In Mitteleuropa ist das Isolat E vorherrschend, das an der Sauerkirsche die "Stecklenberger Krankheit" verursacht (BAUMANN und KLINKOWSKI, 1955; BAUMANN, 1959). KEGLER (1965 a + b) konnte in ausgedehnten Untersuchungen in keinem Falle zwischen den von stecklenbergerkranken Sauerkirschen bzw. von nekrotischen Süßkirschen stammenden Virusisolaten gesicherte Unterschiede finden. Die Sauerkirschenisolate riefen die Süßkirschenvirose und die Süßkirschenisolate die Sauerkirschenvirose mit allen spezifischen Merkmalen an verschiedenen Indikatoren und krautigen Wirtspflanzen hervor. Er ordnete deshalb alle Isolate dem NRV zu.

Die wichtigsten Merkmale des NRV sind die postinfektionelle nekrotische Schockreaktion an Kirschen und Pfirsichsämlingen und die Ausbildung von Enationen an Süß- und Sauerkirschblättern. Der thermale Inaktivierungspunkt liegt über 55°C.

Der NRV unterscheidet sich morphologisch vom CRV und CNRV. OPEL, SCHMIDT und KEGLER (1963/64) ermittelten in NRV-Präparationen einen Durchmesser der isometrischen Partikel von 22 μ , bei CRV-Präparationen dagegen einen Durchmesser von 19 μ . TREMAINE, ALLEN und WILLISON (1964) konnten später zeigen, daß das prune dwarf virus (PDV), das mit dem CRV identisch ist, im Agar-Gel-Test schneller diffundierte als das NRV. Auch daraus kann geschlossen werden, daß das erstgenannte Virus kleiner ist. Die durch das NRV verursachten Krankheiten sind die wichtigsten und häufigsten Viruserkrankungen der Kirsche in Deutschland. Das Virus ist mechanisch, durch Wurzelkontakt und Pfropfung übertragbar. Longidorus macrosoma konnte als Vektor nachgewiesen werden (FRITZSCHE, 1970). Da das Virus außerdem pollen-

übertragbar ist (GEORGE und DAVIDSON, 1963, 1964) - blühende Bäume werden durch kranke Pollen infiziert - kann sich das Virus auf mehreren Wegen in Obstanlagen ausbreiten. Die Neuinfektion gesunder Bäume kann sehr rasch erfolgen, nach drei bis vier Jahren können mehr als 50 % der Bäume einer Obstanlage krank sein (SCHUCH et al., 1967; SCHIMANSKI, 1968; KUNZE, 1968, 1969). Des weiteren ist das Virus samenübertragbar (COCHRAN, 1946; CATION, 1952; BAUMANN, 1959; SCHIMANSKI, 1968; SCHIMANSKI und FUNK, 1968). Diese Tatsache muß besonders bei der Anzucht von Kirschenunterlagen aus den Samen der Vogelkirsche (Prunus avium L.) beachtet werden.

Insekten mit stechend-saugenden Mundwerkzeugen sind nicht zur Übertragung des Virus befähigt (SWENSON und MILBRATH, 1964).

1.3.1.2. Chlorotisches Ringfleckenvirus (CRV)

Als zweites Virus aus der Gruppe der Ringfleckenviren ist das chlorotische Ringfleckenvirus (CRV) zu nennen. Es unterscheidet sich vom NRV durch fehlende nekrotische Schockreaktionen und durch das Ausbleiben von Enationen an den Blättern der Kirsche. Diese von KEGLER (1965 a) ermittelten Eigenschaften des CRV entsprachen denen des von FULTON (1957, 1958) untersuchten Isolates B, des Weidenblättrigkeitsvirus der Pflaume (prune dwarf virus - PDV), sowie weitgehend dem von CROPLEY, GILMER und POSNETTE (1964) beschriebenen Virus S, einem englischen Isolat. WATERWORTH und FULTON (1964) konnten nachweisen, daß das PDV, wie auch das Virus S, Vergilbungen an der Sauerkirschsorte "Montmorency" unter bestimmten Bedingungen hervorrufen, so daß diese beiden Isolate mit dem CRV identisch sein dürften.

Das CRV ist somit der Erreger der chlorotischen Ringfleckkrankheit der Süßkirsche, der Vergilbungskrankheit der Sauerkirsche, der Weidenblättrigkeit der Pflaume und der vorübergehenden Triebstauchung des Pfirsichs. RICHTER und KEGLER (1967) konnten in serologischen Untersuchungen nachweisen, daß das CRV gegenüber dem NRV als eigenständiges Virus angesehen werden

muß. Das Virus ist nicht auf Chenopodium-Arten, im Gegensatz zum NRV aber auf Sesbania exaltata (Raf.) Cory übertragbar, wo es Lokalläsionen hervorruft. Als wichtige Testpflanze erwies sich ferner Curcubita maxima Duch., die mit goldgelber Verfärbung der Laubblätter reagiert. Der thermale Inaktivierungspunkt liegt unter 44°C. Das Virus ist ähnlich dem NRV mechanisch, durch Pfropfung, samen- und pollenübertragbar (KEITT und CLEYTON, 1943; WAY und GILMER, 1963). Es ist weltweit verbreitet und verursacht besonders an Sauerkirschen große Ertragsverluste.

1.3.1.3. Chlorotisch-nekrotisches Ringfleckenvirus (CNRV)

Obwohl in den eigenen Versuchen mit dem chlorotisch-nekrotischen Ringfleckenvirus nicht gearbeitet wurde, soll es doch der Vollständigkeit halber mit erwähnt werden.

Die Diagnose dieser Viruskrankheit ist schwierig, da die Symptome einerseits nur an wenigen Blättern auftreten, andererseits in bestimmten Stadien mit denen des nekrotischen, in anderen mit denen des chlorotischen Ringfleckenvirus verwechselt werden können. Lange Zeit wurde das CNRV dem CRV zugeordnet, KEGLER (1965 a + b) sowie RICHTER und KEGLER (1967) räumten ihm jedoch aufgrund ihrer Ergebnisse eine Sonderstellung ein. Dieses Virus besitzt Eigenschaften, die es in bestimmten Fällen als "schwachen Stamm" des NRV, in anderen als "starken Stamm" des CRV auszuweisen scheinen. Auf eine Verwandtschaft mit dem NRV deuten die gelegentlich vorkommenden nekrotischen Flecke an Sauerkirschblättern, sowie nekrotische Lokalläsionen an Momordica balsamina hin. Die Vergilbung an Sauerkirschen, die Höcker-Enationen an der Sorte "Bing", die Symptome an Tithonia speciosa und Sesbania exaltata, sowie der thermale Inaktivierungspunkt, scheinen auf eine Verwandtschaft mit dem CRV hinzuweisen. Gegen die Vermutung, daß in diesem Falle ein Virusgemisch aus NRV und CRV vorliegt, sprach die Nichtanfälligkeit der geprüften Chenopodium-Arten, der um 10°C niedriger als bei NRV liegende thermale Inaktivierungspunkt, sowie die gegen NRV und CRV nicht anfällige Wirtspflanze Solanum sisym-

briffolium (WATERWORTH und FULTON, 1964; NEMETH, 1965).

Ausschlaggebend für die Sonderstellung waren allerdings die serologischen Befunde, die eine Mittlerstellung zwischen den beiden vorgenannten, serologisch nicht verwandten Viren aufzeigten (RICHTER und KEGLER, 1967). Während CRV und NRV serologisch nicht miteinander reagieren, verhält sich das CNRV abweichend. Es reagiert stark mit CRV (PDV) - Antiserum. Darüber hinaus kommt es zwischen NRV und CNRV-Antiserum zu einer Überkreuzreaktion, die wahrscheinlich vom nichtreziproken Typ ist.

Das CNRV wird heute als eigenständiges Virus innerhalb der Gruppe der Kirschen-Ringfleckenviren angesehen. Über seine eventuelle Zwischenstellung kann noch nichts Endgültiges gesagt werden.

1.3.2. Die Pfeffinger Krankheit der Kirsche

Die Pfeffinger Krankheit, die nach ihrem Fundort in der Schweiz benannt wurde (BLUMER und GEERING, 1950), wird durch das Himbeerringfleckenvirus (raspberry ringspot virus - RRV) verursacht (BERCKS und MISCHKE, 1963/64; KEGLER, 1960). Diese Krankheit wird auch als Rauhlättrigkeit (rasp leaf) der Süßkirsche bezeichnet, es ist jedoch zu beachten, daß in Europa eine weitere Rauhlättrigkeit der Süßkirsche durch das Arabis-Mosaikvirus (CROPLEY, 1961, 1964) und durch das Virus der Ungarischen Rauhlättrigkeit (KEGLER, 1964) beobachtet wurde. In Nordamerika führt auch das nematodenübertragbare Tomatenringfleckenvirus, das bisher in Europa nicht beobachtet wurde, zu einer Rauhlättrigkeit (eola rasp leaf). In Holland wurde die "Eckelraderziekte" beschrieben, die der Pfeffinger Krankheit weitgehend gleicht (PFAELTZER, 1959). Von kranken Bäumen konnte das Himbeerringfleckenvirus und das Blattroll-Virus isoliert werden. Das Himbeerringfleckenvirus ist nematodenübertragbar, als Vektoren konnten Longidorus macrosoma (HARRISON, 1964) und Longidorus elongatus (TAYLOR, 1962) ermittelt werden.

Kennzeichnend für diese Süßkirschenvirose sind olivgrüne, verwaschene Flecken auf den Blättern, oft auch Enationen entlang der Rippen auf der Blattunterseite. Starke Wachstumshemmungen, Gummifluß, Rosettenbildung, Verkahlen der Zweige und Absterben ganzer Astpartien charakterisieren den Krankheitsverlauf. Die Pfeffinger Krankheit hat in deutschen Kirschanbaugebieten eine überaus starke Ausbreitung erfahren (KUNZE, 1953; BOEK, 1954, 1956 a+b).

1.3.3. Triebstauchung des Pfirsichs durch das Tomatenschwarzringfleckenvirus

Triebstauchungen des Pfirsichs können durch das Tomatenschwarzringfleckenvirus (ToSRV) und durch das latente Ringfleckenvirus der Erdbeere verursacht werden. MISCHKE und SCHUCH (1962) beschrieben erstmals eine viröse Triebstauchung des Pfirsichs in Deutschland. MISCHKE und BERCKS (1963/64) konnten das Virus mit Hilfe serologischer Untersuchungen als Stamm des ToSRV identifizieren. Das ToSRV kann an verschiedenen Gehölzen Krankheiten verursachen. So konnte es in Reben (STELLMACH und BERCKS, 1963), Kirschen (BERCKS und MISCHKE, 1964) und Robinien (SCHMELZER, 1962/63) nachgewiesen werden. In Schottland wurde das Virus an Himbeeren beobachtet, an denen es starke Schäden verursacht (TAYLOR, CHAMBERS, PATTULLO, 1965; HARRISON, 1958). Da das Virus einen sehr großen Wirtspflanzenkreis außerhalb der Gehölze besitzt, dürfte seine Verbreitung doch recht erheblich sein, wenngleich genauere Beobachtungen noch ausstehen.

Kranke Pfirsichbäume fallen durch vorzeitige Blattvergilbung auf, die Internodien einjähriger Triebe sind stark verkürzt, es kommt zu Triebstauchungen und Rosettenbildung. An jungen Pfirsichsämlingen kann eine starke Enationenbildung an der Blattunterseite beobachtet werden.

Für das ToSRV an der Himbeere wurde die Übertragung durch Larven von Longidorus elongatus (HARRISON, 1958) nachgewiesen.

2. MATERIAL und METHODEN

Die Versuche der vorliegenden Arbeit wurden am Institut für Phytopathologie der Justus Liebig- Universität in Giessen in der Zeit von November 1967 bis Mai 1970 durchgeführt.

2.1. Virusherkünfte

Die untersuchten Viruskrankheiten und ihre Herkünfte sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Die untersuchten Viruskrankheiten und ihre Herkünfte

Krankheit	Virus	Wirtspflanze	Sorte	Herkunft
Nekrotische Ringfleckkrankheit	NRV	Süßkirsche	Hedelfinger	Ahrweiler ¹⁾
		"	Schneiders Sp.Knorpel	"
Stecklenberger Krankheit	NRV	Sauerkirsche	Schattenmor.	Frankfurt ²⁾
Chlorotische Ringfleckkrankheit	CRV	Süßkirsche	Hedelfinger	Ahrweiler
		"	Schneiders Sp.Knorpel	"
Pfeffinger Krankheit	RRV ⁴⁾	Süßkirsche	--	Friedberg
Triebstauung des Pfirsichs	ToSRV	Pfirsich	--	Mainz ^{1),3)}

- 1) Dem Landespflanzenschutzamt Mainz danken wir für die freundliche Überlassung der Reiser.
- 2) Es handelt sich um die gleiche Obstanlage, in der auch die Untersuchungen von SCHUCH, MISCHKE und KUNZE (1967) über die Ausbreitung und von KUNZE (1969) über den Einfluß der Stecklenberger Krankheit auf den Ertrag der Sauerkirschen durchgeführt wurden.
- 3) Es handelt sich um den gleichen Baum, an dem auch schon MISCHKE und SCHUCH (1962), sowie MISCHKE und BERCKS (1963/64) das Virus erstmals aus Pfirsich isolierten und diagnostizierten.
- 4) Die Symptome an Chenopodium quinoa (nekrotische Läsionen, Spitzennekrosen) ließen auf das RRV schließen. Das Arabis-Mosaikvirus verursacht chlorotische Lokalläsionen an der gleichen Testpflanze, die aber nicht beobachtet werden konnten. Auch konnte an Gomphrena globosa das Arabis-Mosaikvirus nicht nachgewiesen werden.

Die Reiser wurden während der Hauptruheperiode im Januar/Februar der Versuchsjahre 1968 und 1969 geschnitten. Bis zu ihrer Weiterverwendung wurden sie in feuchten Sand eingeschlagen und in einem Kühlraum bei etwa 4°C gelagert.

2.2. Anzucht der Versuchspflanzen

Alle für die Versuche verwendeten Pflanzen wurden in einer überdachten Vegetationshalle angezogen. Als Kultursubstrat diente ein Gemisch aus Komposterde, Torf und Sand. Die Pflanzen wurden in Baumschul-Container aus Polyäthylen (16 und 18 cm Ø) eingetopft, durch regelmäßiges Spritzen mit Insektiziden schädlingsfrei gehalten, entsprechend den Anforderungen gedüngt und in einem jeweils für die Versuche geeigneten Zustand benutzt.

Für die Experimente mußten mehrere hundert Versuchspflanzen angezogen werden. Die Unterlagen wurden von einer norddeutschen (Baumschule 1) und von einer süddeutschen (Baumschule 2) Unterlagenbaumschule bezogen. Folgende Kirschenunterlagen wurden verwendet:

Prunus avium L.: Einjährige Sämlinge der "Limburger Vogelkirsche" in der Sortierung 7/9 mm.

Einjährige Abrisse des Klons "F 12/I", in der Sortierung 7/9 mm.

Prunus mahaleb L.: Einjährige Sämlinge der Auslese "Hüttner-Heinemann 10", in der Sortierung 7/9 mm.

Als Pfirsichunterlage verwendeten wir:

Prunus persica L.: Einjährige Sämlinge in der Sortierung 7/9 mm.

2.2.1. Prüfung der Unterlagen auf ihren Gesundheitszustand

Aufgrund der Samenübertragbarkeit der Kirschen-Ringflecken-viren (COCHRAN, 1946; CATION, 1952) mußte damit gerechnet werden, daß auch die bezogenen Unterlagen teilweise viruskrank waren. SCHIMANSKI und FUNK (1968) sowie SCHIMANSKI (1968) haben nachweisen können, daß von ringfleckenkranken Vogelkirschen-Samenspenderbäumen zwischen 11 und 51 % der Nachkommenschaften viruskrank waren.

Von den bezogenen Unterlagen, die in Bündeln zu je 50 Stück geliefert wurden, entnahmen wir aus jedem Bund 5 Pflanzen, topften diese und bonitierten nach der Laubentfaltung auf Krankheits-symptome. Im Juni des jeweiligen Versuchsjahres entnahmen wir von jeder Pflanze 5 Knospen aus den verschiedenen Regionen und setzten diese auf der Testpflanze Prunus serrulata "Shirofugen" ein. In Tab. 4 sind die Ergebnisse der Testungen wiedergegeben. Aus ihr ist zu ersehen, daß Stichproben beider Herkunftsfälle von Prunus avium-Sämlingen in beiden Versuchsjahren Verseuchungs-grade bis zu 14 % aufwiesen. Prunus avium F 12/I dagegen erwies sich weitgehend als virusfrei. Nur aus einer Probe des Jahres 1968 konnte eine ringfleckenkranke Pflanze ermittelt werden. Die hohe Virusfreiheit dieser Unterlage mag durch die vegetative Vermehrung bedingt sein. Pflanzen dieser Art kommen in den Vermehrungsbaumschulen nie oder höchst selten zum freien Abblühen, so daß eine Infektion über die Blüte kaum eintreten kann. Prunus mahaleb erwies sich ebenfalls in einem hohen Grade als viruskrank. So konnten im Jahre 1968 in den Stichproben bis zu 15 % infizierter Pflanzen ermittelt werden. Der Grund für diese hohen Werte ist auch hier in der Samenübertragbarkeit der Ringflecken-viren zu sehen. Auffällig ist bei Prunus mahaleb auch, daß es nur sehr selten zur Symptomausbildung an den Pflanzen kommt, während der "Shirofugentest" wesentlich präzisere Ergebnisse erbrachte. In den folgenden Ausführungen über Testung und Testsicherheit wird darauf noch hingewiesen werden. Prunus persica gilt als latenter Träger der Kirschen-Ring-

Tabelle 4: Prüfung des Gesundheitszustandes der bezogenen Steinobstunterlagen
(T stung auf Kirschen-Ringfleckenviren)

Unterlage	1968				V e r s u c h s j a h r				1969	
	Symptome	Shiro- fugen- test	Anzahl kranker Pflanzen abso- lut	rela- tiv (%)	Symptome	Shiro- fugen- test	Anzahl kranker Pflanzen abso- lut	rela- tiv (%)		
<u>Baumschule 1</u>										
<u>P. avium</u> Slg.	50/4	50/7	7	14	80/7	80/11	11	14		
<u>P. avium</u> Fl2/I	35/0	35/0	0	0	20/0	20/0	0	0		
<u>P. mahaleb</u> Slg.	30/1	30/4	4	13	30/2	30/3	3	10		
<u>P. persica</u> Slg.	10/0	10/1	1	10	-	-	-	-		
<u>Baumschule 2</u>										
<u>P. avium</u> Slg.	60/2	60/5	5	8	40/1	40/5	5	13		
<u>P. avium</u> Fl2/I	20/0	20/1	1	5	25/0	25/0	0	0		
<u>P. mahaleb</u> Slg.	20/0	20/3	3	15	20/1	20/2	2	10		
<u>P. persica</u> Slg.	-	-	-	-	20/0	20/0	0	0		

Zähler: Anzahl der getesteten Pflanzen

Nenner: Anzahl der ringfleckenkranke Pflanzen

fleckenviren. Die Pflanzenerwiesen sich hochgradig virusfrei, nur im Jahre 1968 konnte eine kranke Pflanze beobachtet werden.

Der ermittelte hohe Verseuchungsgrad von Prunus avium-Sämlingen und Prunus mahaleb veranlaßte uns, soweit wie möglich auf diese beiden Unterlagen zugunsten von Prunus avium F 12/I zu verzichten.

2.2.2. Anzucht viruskranker Versuchspflanzen

Jedes Pflanzenvirus läßt sich durch Pfropfung übertragen, sofern die Möglichkeit einer Gewebeverwachsung zwischen dem viruskranken und dem gesunden Partner besteht. Es gibt jedoch auch mannigfaltige Beispiele dafür, daß eine Verwachsung nicht unbedingt eintreten muß, um zu einer Infektion der gesunden Pflanze zu gelangen. Als Pfropfmethoden sind alle Verfahren anwendbar, die in der gärtnerischen Praxis Verwendung finden. Daneben sind aber auch verschiedenen Verfahren zur experimentellen Virusübertragung durch Pfropfung entwickelt worden, die keine oder nur geringe Bedeutung im Gartenbau haben.

In unseren Versuchen wurden alle Viren durch Pfropfung übertragen. Angewendet wurden die bekannten gärtnerischen Verfahren der Spaltpfropfung, der Kopulation, der Pfropfung hinter die Rinde und der Okulation. Die Rindenschildchen-Pfropfung (chipbudding) stellt eine spezielle Pfropfmethode in der pflanzlichen Virologie dar. Zur Übertragung der Viren werden knospenlose, flache Rinde und Holz umfassende Schildchen (chips) in zu infizierende Pflanzen implantiert.

Für das NRV und das CRV standen genügend Reiser dreier Kultursorten zur Verfügung, so daß kranke Pflanzen durch Reiserpfropfung angezogen werden konnten. Im Februar der entsprechenden Versuchsjahre wurden kranke Reiser der Kultursorten "Hedelfinger", "Schneiders Späte Knorpelkirsche" und "Schattenmorelle" auf die verschiedenen Unterlagen gepfropft. Die Edelreiser hatten 3 bis 4 Knospen. Diese sogenannten "Handveredlungen" wurden anschlie-

Send getopft und zunächst im Gewächshaus, später in der Vegetationshalle aufgestellt.

Für das RRV der Kirsche und das ToSRV des Pfirsichs standen nur geringe Mengen kranker Reiser zur Verfügung, so daß keine Reiserpfpfropfungen erstellt werden konnten. Für die Versuche mit diesen beiden Viren wurden die Unterlagen zunächst eingetopft, etwa 20 Tage später wurden ihnen je zwei Rindenschildchen eingesetzt.

Je nach Virus zeigten sich an den Pflanzen früher oder später Symptome. In Tab. 5 werden diese nach ihrem Erscheinungsbild an den verschiedenen Unterlagen und Kultursorten kurz beschrieben.

Bei der Anzucht kranker Pflanzen konnten wir beobachten, daß die Verwachsung zwischen viruskrankem Reis und gesunder Unterlage sehr viel langsamer stattfand und mit größeren Ausfällen verbunden war, als wenn beide Pfropfpartner gesund oder krank waren. Bedingt durch die postinfektionelle Schockreaktion, welche besonders beim NRV zu beobachten ist, erfolgte vielfach kein Verwachsen der Partner, die Reiser starben bald nach der Pfropfung ab. In Tab. 6 sind die Ergebnisse über den Einfluß der Kirschen-Ringfleckenviren auf das Verwachsen der Pfropfpartner wiedergegeben. Die Ausfälle beim NRV waren in den Varianten $U_G - S_K$ (Unterlage gesund - Sorte krank) besonders hoch, da die heftigen Schockreaktionen an der Unterlage, die sich auch in Trieb- und Phloemnekrosen äußern, ein rasches Verwachsen der Partner verhindern. Bei den Varianten $U_K - S_K$ (Unterlage krank - Sorte krank) waren die Unterlagen 6 bis 8 Wochen vor der Reiserpfpfropfung bereits durch "chips" infiziert worden, die Pflanzen hatten dann die Schockreaktionen bereits überwunden. In diesen Varianten wurden Anwachsergebnisse erzielt, die sehr nahe an die der virusfreien Kontrollpflanzen herankamen ($U_G - S_G$).

Beim CRV sind dagegen in den Varianten $U_G - S_K$ die Ausfälle geringer als beim NRV; die Krankheit nimmt einen langsameren

Tabelle 5: Beschreibung der Symptome verschiedener Steinobstvirosen nach künstlicher Infektion

Pfropfung-Pflanze	Virus	Pfropf-termin	erste Symptome	Symptombeschreibung
<u>P. avium</u> Slg. } Süßkirsche <u>P. avium</u> Fl2/I }	NRV	Ende Febr.	Ende März	<u>Unterlage:</u> Starke Schockreaktion, Knospen brechen auf, vertrocknen später, verzögert und geringer Austrieb, nekrotische Ringe, starke Blattdurchlöcherung. <u>Sorte:</u> Gelegentlich nekrotische Blattdurchlöcherung, schärfere Zähnung des Blattrandes, anfängliche Wuchsdepression
<u>P. mahaleb</u> /Süßkirsche	NRV	Ende Febr.	Mitte April	<u>Unterlage:</u> Schwache Schockreaktion, Blattnekrosen, selten Blattdurchlöcherungen. <u>Sorte:</u> Symptome wie oben
<u>P. avium</u> Slg. } Sauerkirsche <u>P. avium</u> Fl2/I } <u>P. mahaleb</u> }	NRV	Ende Febr.	Ende März	<u>Unterlage:</u> Symptome wie oben <u>Sorte:</u> Sehr selten nekrotische Blattdurchlöcherungen, ab E 4 B-Eraktionen an Blattoberseite, geringere Wuchsdepressionen, kleinere Blätter
<u>P. avium</u> Slg. } Süßkirsche <u>P. avium</u> Fl2/I }	CRV	Ende Febr.	Ende April	<u>Unterlage:</u> gelegentlich chlorotische Flecke und Ringe, keine postinfektionelle Schockreaktion, Austriebsverzögerung, im Sommer Maskierung. <u>Sorte:</u> Gelegentlich chlorotische Ringe an Blättern, "Schneiders Später Knorpelkirsche".
<u>P. mahaleb</u> - Süßkirsche	CRV	Ende Febr.	Ende April	<u>Unterlage:</u> Chlorotische Ringe und Flecke an Blättern, leichte postinfektionelle Schockreaktion, Austriebsverzögerung. <u>Sorte:</u> wie oben
<u>P. avium</u> Slg. } Sauerkirsche <u>P. avium</u> Fl2/I } <u>P. mahaleb</u> }	CRV	Ende Febr.	Ende Mai	<u>Unterlage:</u> wie oben <u>Sorte:</u> "Schattenmorelle" gehört zu tolerantesten Sorten, selten Symptome, vorzeitige Vergilbung der Interkostalfelder der Blätter, fallen vorzeitig ab.
<u>P. avium</u> Slg. } <u>P. avium</u> Fl2/I }	RRV	Ende Febr.	Mitte Juni	Symptome nach 3-4 Monaten, starke Wuchsdepressionen, Rosettenbildung, gelegentlich hellgrüne Blatrflecken, diese später olivgrün ("Ölflecken"), Blätter kleiner, kurzstielig, extraflorale Nektarien, Blattspreiten schmal, scharfe und unregelmäßige Zähnung, gelegentlich Gummi-fluß an Trieben.
<u>P. persica</u>	ToSRV	Ende Febr.	Mitte Mai	Symptome nach etwa 3 Monaten, Triebe stagniert, rosettenähnliche Blattbüschel, Einzelblätter sehr schmal, dunkelgrün-glänzend, starke Bildung von B-Eraktionen auf Blattunterseite ab E5, vorzeitiges Vergilben der Blätter.

Pfropfung	Virus	Variante ¹⁾	Pfropfungen (Stück)	angewachsen absolut	angewachsen relativ (%)
F 12/I-Schattenmorelle	-	UG-SG	40	36	90
F 12/I-Schattenmorelle	NRV	UG-SK	60	19	32
F 12/I-Schattenmorelle	NRV	UK-SK	60	49	82
F 12/I-Hedelfinger	-	UG-SG	30	26	87
F 12/I-Hedelfinger	NRV	UG-SK	40	17	43
F 12/I-Hedelfinger	NRV	UK-SK	30	22	73
P.mahal./Schattenmorelle	-	UG-SG	30	17	57
P.mahal./Schattenmorelle	NRV	UG-SK	50	11	22
P.mahal./Schattenmorelle	NRV	UK-SK	35	14	40
P.mahal./Hedelfinger	-	UG-SG	35	20	57
P.mahal./Hedelfinger	NRV	UG-SK	40	15	38
P.mahal./Hedelfinger	NRV	UK-SK	30	18	60
F 12/I-Schattenmorelle	-	UG-SG	40	34	85
F 12/I-Schattenmorelle	CRV	UG-SK	40	26	65
F 12/I-Schattenmorelle	CRV	UK-SK	40	32	80
F 12/I-Hedelfinger	-	UG-SG	50	44	88
F 12/I-Hedelfinger	CRV	UG-SK	65	33	51
F 12/I-Hedelfinger	CRV	UK-SK	40	32	80
P.mahal./Schattenmorelle	-	UG-SG	30	16	53
P.mahal./Schattenmorelle	CRV	UG-SK	40	19	48
P.mahal./Schattenmorelle	CRV	UK-SK	30	12	40
P.mahal./Hedelfinger	-	UG-SG	30	17	57
P.mahal./Hedelfinger	CRV	UG-SK	60	21	30
P.mahal./Hedelfinger	CRV	UK-SK	50	22	44

1) U = Unterlage, S = Sorte, G = gesund, K = krank

und milderen Verlauf, und es kommt zu keinen nekrotischen Schockreaktionen. Allerdings sind die Werte gegenüber $U_K - S_K$ noch immer deutlich geringer, ein zeitlich stark verzögerter Austrieb konnte stets beobachtet werden.

Des weiteren muß noch auf die großen Unterschiede zwischen den beiden Unterlagen Prunus avium F 12/I und Prunus mahaleb hingewiesen werden. Pfropfungen auf Prunus mahaleb sind mit wesentlich größeren Ausfällen verbunden, auch wenn gesunde Reiser auf diese Unterlage gepfropft wurden. Aus Gründen, welche später noch erläutert werden müssen, konnte jedoch auf diese Unterlage nicht verzichtet werden.

Ein weiteres Merkmal viruskranker gegenüber gesunden Pflanzen besteht in der verminderten vegetativen Triebleistung. Im Jahre 1968 wurden die Austriebslängen an Pflanzen gemessen, die mit den verschiedenen Viren infiziert waren.

F 12/I-Unterlagen wurden mit NRV- und CRV-kranken Reisern der Süßkirschensorte "Hedelfinger" gepfropft. Die Versuchspflanzen für das RRV wurden derart angezogen, daß wir zunächst virusfreie Reiser der gleichen Sorte auf die Unterlagen pfropften, im Anschluß daran wurden die Pflanzen durch zwei "chips" mit dem RRV infiziert. Auch das ToSRV wurde durch chip-Pfropfung auf virusfreie Pfirsichunterlagen übertragen.

In Abb. 2 ist die Triebleistung infizierter und gesunder Pflanzen dargestellt. In der Darstellung verwendeten wir die Mittelwerte von jeweils 20 Einzelpflanzen, wobei an jeder Pflanze die Austriebe der drei Knospen des Pfropfreises bzw. beim Pfirsich die Austriebe der oberen drei Knospen jeder Pflanze in 14tägigen Abständen gemessen wurden.

Sehr ähnlich in ihrem Verlauf sind die Wachstumskurven von NRV und CRV. Bei beiden Viren, insbesondere aber beim NRV, tritt nach der Infektion eine starke Wuchshemmung, bedingt durch die postinfektionelle Schockreaktion ein, die nach etwa 2 Monaten beendet ist. Beim CRV ist diese anfängliche Wachstums-

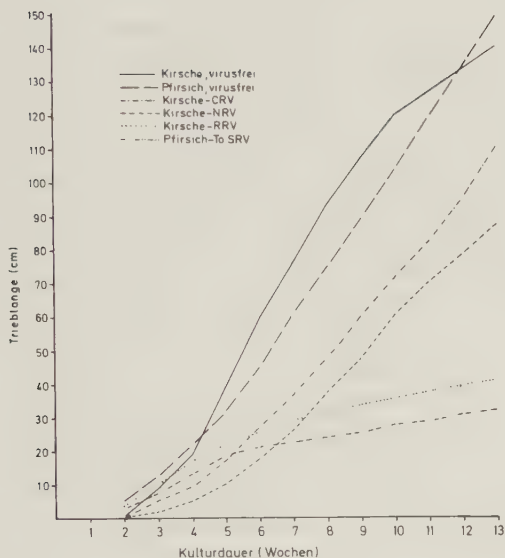


Abb. 2: Der Einfluß verschiedener Steinobstviren auf die Wuchsleistung infizierter Bäume unter Gewächshausbedingungen.

hemmung geringer. Nach dieser anfänglichen Wuchsdepression erfolgt dann eine starke vegetative Entwicklung, die allerdings noch deutlich hinter der virusfreien Kontrolle zurückbleibt.

RRV und ToSRV schränken im Gegensatz zu den beiden erstgenannten Viren das vegetative Wachstum außerordentlich stark ein. Sobald die Pflanze voll systemisch erkrankt ist (bei beiden Viren ist dieser Zeitpunkt etwa 2 Monate p.i. erreicht), stagniert das Wachstum, es kommt zur Rosettenbildung und einem langsamen Vergreisen der Bäumchen.

2.2.3. Anzucht virusfreier Versuchspflanzen

Für unsere Untersuchungen war eine größere Zahl von virusfreien Versuchspflanzen nötig. Wie aus Tab. 4 zu ersehen ist, erwies sich lediglich Prunus avium F 12/I als hochgradig virusfrei. Für alle Versuche, in denen virusfreie Kirschenunterlagen benötigt wurden, verwendeten wir deshalb diese Form. Für die Versuche mit Pfirsich nahmen wir Pfirsichsämlinge, die sich ebenfalls weitgehend als virusfrei erwiesen hatten. Die Pflanzen, die im Winter der jeweiligen Versuchsjahre aus den Baumschulen bezogen wurden, lagerten wir in einem Kühlraum bei 2°C. Bei dieser Temperatur sind sie etwa 6-8 Monate ohne wesentliche Beeinträchtigung lagerfähig und standen somit während der ganzen Vegetationsperiode zur Verfügung.

2.3. Testpflanzen, Testverfahren und Testsicherheit

Die Auslese gesunder Pflanzen ist nicht allein durch visuelle Beurteilung möglich, da die Viruserkrankung eines Obstbaumes nicht immer durch spezifische Symptome offenbar wird. Die Krankheiterscheinungen können durch Umweltbedingungen maskiert, nach anfänglicher Schockreaktion abgeschwächt werden oder verschwinden. Die Unsicherheit in der visuellen Diagnostik erfordert eine Prüfung des Gesundheitszustandes durch experimentellen Virsunachweis, die Testung. Dieser Nachweis kann durch Übertragung des möglicherweise in der Mutterpflanze vorhandenen Virus auf empfindliche Obstsorten oder -arten (Indikatoren) bzw. krautige Pflanzenarten (Testpflanzen) erfolgen. Diese Testungen können sowohl im Freiland als auch im Gewächshaus durchgeführt werden. Nach BAUMANN (1962) ließen sich mit Hilfe des Gewächshaustestes die in Süß- und Sauerkirsche, in Pfirsich und Pflaume vorkommenden Viren nach wesentlich kürzerer Zeit mit der gleichen Sicherheit feststellen als im Freiland. In unseren Versuchen erfolgten alle Tests im Gewächshaus, eine Ausnahme bildete nur der "Shirofugentest", der im Freiland durchgeführt werden muß. Neben verschiedenen Gehölzindikatoren wurden auch krautige Pflanzen, auf welche die Viren mechanisch

übertragen wurden, zum Test herangezogen.

Die Testungen erfolgten nach den "Richtlinien zur Anzucht von virusgetesteten Obstgehölzen", wie sie von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft formuliert und aufgestellt wurden (ANONYM, 1967).

2.3.1. Testpflanzen

Zum Nachweis der einzelnen Viren wurden folgende Testpflanzen verwendet:

- a) NRV: Prunus serrulata "Shirofugen"
Prunus avium F 12/I
Prunus persica - Sämling
Cucumis sativus "Delikateß"
Chenopodium quinoa
- b) CRV: Prunus serrulata "Shirofugen"
Prunus avium F 12/I
Prunus persica - Sämling
Cucumis sativus "Delikateß"
- c) RRV: Prunus avium F 12/I
Prunus avium - Sämling
Chenopodium quinoa
Chenopodium amaranticolor
- d) ToSRV: Prunus persica - Sämling
Chenopodium amaranticolor
Cucurbita ficifolia

2.3.2. Testverfahren

Da in unseren Untersuchungen der Frage nachgegangen wurde, inwieweit durch die Thermotherapie eine mögliche Inaktivierung oder Eliminierung der Viren zu erzielen sei, kam den Testverfahren eine besondere Bedeutung zu. Die von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft herausgegebenen

Richtlinien und standardisierten Verfahren wurden in unseren Untersuchungen teilweise modifiziert. Nachfolgend sollen die Testverfahren kurz beschrieben werden.

2.3.2.1. "Shiروفуген"-Test

Alle Kirschen-Ringfleckenviren werden mit dem "Shiروفуген"-Test erfaßt. Von den zu prüfenden Bäumen wurden jeweils 5 bis 6 Knospen, nur in Ausnahmen Rindenschildchen, fortlaufend im Abstand von 5 cm auf vorjährige Triebe des Indikators implantiert. Das unterste eingesetzte Auge soll mindestens 12 cm von dem Ansatz des beimpften Triebes entfernt sein. Nach 5, 10 und 15 Wochen erfolgte die Auswertung der Inokulationsstellen. Sofern die zu testende Pflanze viruskrank war, bildeten sich um die Inokulationsstelle heftige Nekrosen, begleitet von starkem Gummifluß. Nach Beendigung der Auswertung wurden die infizierten Triebe abgeschnitten, die Pflanzen können somit mehrere Jahre verwendet werden. Der "Shiروفуген"-Test wird in der Zeit von Austriebsbeginn bis Ende Juli durchgeführt.

2.3.2.2. Gewächshhaustestung mit Gehölzindikatoren

Prunus avium F 12/I diene als Indikator für die Kirschen-Ringfleckenviren und das RRV. Für das RRV benutzten wir außerdem Prunus avium-Sämling als Testpflanze, der für die Ringfleckenviren wegen seiner hohen natürlichen Infektion mit diesen aus-
scheidung. Pfirsichsämling diene als Testpflanze für das NRV, CRV und ToSRV.

Für die Durchführung der Tests wurden einjährige, gut bewurzelte Pflanzen ab Januar getopft und im Gewächshaus angetrieben. Für jeden zu prüfenden Baum wurden 4 Pflanzen des jeweiligen Indikators verwendet. Etwa 10-15 cm über dem Topfrand wurden je Indikatorpflanze 2 Rindenschildchen dicht über einer Knospe eingesetzt und gut verbunden. Anschließend wurden die Pflanzen 5 cm über der obersten Inokulationsstelle abgeschnitten und nach dem Austrieb bei 15 bis 20°C gehalten. Die Inokulation sollte beendet sein, wenn sich die Knospen entfaltet haben. Die Beobachtungsdauer betrug 8 - 12 Wochen, das Ablesen der Symptome erfolgte in wöchentlichen Abständen.

In Tab. 5 waren bereits die Symptome der verschiedenen, von uns untersuchten Steinobstviren, beschrieben worden. Da Indikatoren und verwendete Unterlagen zur Anzucht viruskranker Bäume in vielen Fällen identisch waren, brauchen an dieser Stelle die Symptome nicht nochmals aufgeführt zu werden. Lediglich die Symptome an Prunus persica Slg. müssen noch erwähnt werden. Prunus persica gilt als guter Indikator für das NRV und CRV. Sofern die inokulierten Rindenschildchen viruskranken Bäumen entstammten, entstanden an den untersten Blättern kleine chlorotische Ringe und Flecke. Auffällig für das NRV sind auch Triebspitzennekrosen, die beim CRV nicht beobachtet werden konnten. Bei Anwesenheit der Ringfleckenviren bleiben im Frühjahr die Triebe gestaucht, erst im Sommer kommt es dann wieder zu einem kräftigeren Wuchs.

2.3.2.3. Gewächshaustestung mit krautigen Pflanzen

Die mechanische Übertragung aller vier untersuchten Viren auf krautige Testpflanzen stellt eine weitere Möglichkeit ihres Nachweises dar. Für den Nachweis des NRV dienten Cucumis sativus "Delikateß" und Chenopodium quinoa, für das CRV ebenfalls Cucumis sativus "Delikateß", für das RRV Chenopodium amaranticolor und Chenopodium quinoa und für das ToSRV Chenopodium amaranticolor und Cucurbita ficifolia "Kürbis Clivia" als Testpflanzen.

Das Inokulum wurde aus entschnittenen, schwellenden Knospen oder aus ganz jungen Blättern zu Beginn der Vegetationsperiode bereit. Zur Herstellung des Inokulums wurde ein Stabilisierungsgemisch nach KEGLER und OPEL (1963) mit folgender Zusammensetzung verwendet:

0,015 M Na-Diäthylthiocarbamat,
0,015 M N'N'-Diphenylthioharnstoff,
0,03 M Coffein,
alle 3 Komponenten gelöst in 0,02 M Sörensen-Phosphatpuffer, pH 8.

2 g Pflanzensubstanz wurden zusammen mit 5 ml der Pufferlösung in einem Mörser zerrieben.

Die Testpflanzen wurden in Multitopfplatten angezogen. Mit dem Inokulum rieben wir bei Gurke und Kürbis 10, bei den Chenopodien 5 Pflanzen ab. Gurke und Kürbis beimpften wir über die Kotyledonen, wobei der günstigste Zeitpunkt gegeben ist, solange das erste gefaltete Laubblatt nicht größer als 3 mm ist. Bei den Chenopodien sollten sich mindestens 3 Blattpaare entfaltet haben. Zur Infektion wurden die Blätter vorher mit Karborund (Partikelgröße 320 μ) bestäubt, das Inokulum mit dem Finger aufgenommen und vorsichtig eingerieben. Sofort nach dem Einreiben wurden die so behandelten Blätter unter fließendem Wasser abgespült. Die Tests erfolgten bei Austriebsbeginn der Gehölze im Frühjahr; die Temperaturen im Gewächshaus sollten um 20°C liegen. Das Ablesen der Symptome wurde vom 5. Tage ab alle vier Tage vorgenommen. In Tab. 7 sind Inkubationszeiten und Symptome der verschiedenen Testpflanzen und Viren beschrieben.

2.3.3. Testsicherheit

Die Empfindlichkeit und Anfälligkeit von Indikatoren und Testpflanzen gegenüber den verschiedenen Obstviren ist unterschiedlich. Da das Ziel unserer Untersuchungen die virusfreie Pflanze, hervorgegangen aus einer viruskranken, war, maßen wir der Testung eine entscheidende Bedeutung zu. Um ein Höchstmaß an Sicherheit zu erreichen, wurden die Tests in zeitlichen Abständen wiederholt.

Die Testsicherheit der einzelnen Indikatoren und Testpflanzen gegenüber den verschiedenen Viren sollte 1968 in einem Versuch experimentell ermittelt werden. In den Tab. 8, 9, 10 und 11 werden die Ergebnisse wiedergegeben. 10 infizierte Pflanzen mit gut ausgeprägten Symptomen eines jeden Virus durchliefen die einzelnen Tests. Anhand der angegebenen Mittelwerte kann die spezifische Eignung ersehen werden.

Tabelle 7: Inkubationszeit und Symptome verschiedener Steinobstviren an krautigen Testpflanzen

Testpflanze	Virus	Inkubationszeit (Tage)	Symptombeschreibung
<u>C. sativus</u> <u>"Delikates"</u>	NRV	4-10	Nekrotische und chlorotische Flecken auf Abreibblättern, Scheckung und Mißbildung der ersten Nachfolgebblätter, oft starke Nekrotisierung, Welken und Zusammenbrechen der Pflanze.
<u>C. sativus</u> <u>"Delikates"</u>	CRV	5-10	Chlorotische Flecken auf Abreibblättern, Scheckung und Mißbildung an Nachfolgebblättern, keine Nekrosen, Rosetten- und Krüppelwuchs, Blattvergilbung.
<u>Ch. quinoa</u>	NRV	10-15	Helle Flecken auf jungen Blättern, später leichte Kräuselung derselben, gelegentlich Triebspitzennekrosen, rasches Vergilben der Blätter, Pflanze stirbt nicht ab.
<u>Ch. quinoa</u>	RRV	8-10	Graubraune Nekrosen auf Abreibblättern, Folgeblätter chlorotisch, später nekrotisch, einzelne Blätter sterben ab, die an der Pflanze hängen bleiben, später ganze Pflanze tot.
<u>Ch. amaranticolor</u>	RRV	10-15	Lokalläsionen auf Abreibblättern, keine Symptome an den Folgeblättern.
<u>Ch. amaranticolor</u>	ToSRV	12-14	Keine Primärsymptome, gelbliche Flecken nach etwa 8 Tagen, Pflanze mit Wuchsdepressionen, Bildung zahlreicher Nebentriebe.
<u>C. ficifolia</u> <u>"Clivia"</u>	ToSRV	8-10	Keine Reaktion auf beimpften Kottyledonen, systemische Erkrankung, hellgrüne, ringförmige Flecken auf Laubblättern, Blattverküppelungen, Interkostalfelder blasig aufgetrieben, nach 6 Wochen starke Enationbildung auf Blattunterseite.

Tabelle 8: Die Testsicherheit zum Nachweis des NRV

Pflanze	T e s t p f l a n z e n				
	Shiروفуген	F 12/I	<u>P.persica</u>	<u>C.sativus</u>	<u>Ch.quinoa</u>
1	4/5 ¹⁾	5/5 ²⁾	3/5 ²⁾	4/10 ²⁾	2/5 ²⁾
2	5/5	5/5	1/5	7/10	0/5
3	3/5	2/5	4/4	3/10	2/5
4	5/5	4/5	2/5	6/10	1/5
5	3/5	2/5	5/5	7/10	0/5
6	4/5	5/5	3/5	2/10	4/5
7	5/5	3/5	2/5	8/10	2/5
8	5/5	5/5	0/5	9/10	2/5
9	5/5	4/5	2/5	5/10	0/5
10	3/5	3/5	4/5	6/10	3/5
Kontrolle	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Summe	42/50	38/50	26/49	57/100	16/50
relativ	0,85	0,76	0,52	0,57	0,32

1) Zähler: eingesetzte Knospen mit positiver Reaktion
 Nenner: eingesetzte Knospen insgesamt

2) Zähler: Pflanzen mit Symptomen
 Nenner: Gesamtzahl der Testpflanzen

Der Tab. 8 kann entnommen werden, daß der "Shiروفугентест" und der auf Prunus avium F 12/I zum Nachweis des NRV als relativ sicher anzusehen sind, vertretbar sind noch P. persica und C. sativus, während Chenopodium quinoa eine sehr unsichere Testpflanze für dieses Virus darstellt.

Auch für das CRV erwies sich der "Shiروفугентест", wie aus Tab. 9 hervorgeht, als der sicherste Nachweis. Gut geeignet ist auch Prunus persica, während im Gegensatz zum NRV F 12/I nur eine mäßige Testsicherheit zeigt. Auch C. sativus kann nur als bedingt brauchbar angesehen werden.

Tabelle 9: Die Testsicherheit zum Nachweis des CRV

Pflanze	T e s t p f l a n z e n			
	Shirofugen	F 12/I	<u>P.persica</u>	<u>C.sativus</u>
1	5/5	2/5	3/5	2/10
2	3/5	3/5	4/5	0/10
3	4/5	2/5	4/5	4/10
4	5/5	1/5	3/5	3/10
5	3/5	4/5	2/5	0/10
6	5/5	0/5	3/5	4/10
7	4/5	3/5	5/5	5/10
8	5/5	4/5	2/5	3/10
9	2/5	2/5	3/5	6/10
10	3/5	2/5	3/5	2/10
Kontrolle	0/5	0/5	0/5	0/5
Summe	39/50	23/50	32/50	29/100
relativ	0,78	0,46	0,64	0,29

Für das RRV (Tab. 10) eignen sich F 12/I, P. avium Slg. und Chenopodium quinoa etwa gleich gut als Testpflanzen. Als unbefriedigend erwies sich lediglich Chenopodium amaranticolor.

In Tab. 11 sind die Werte für das ToSRV angegeben. Aus ihr wird sichtbar, daß P. persica eine gute Testpflanze für dieses Virus ist, auch Cucurbita ficifolia ist verläßlich, während Chenopodium amaranticolor nicht befriedigen konnte.

Tabelle 10: Die Testsicherheit zum Nachweis des RRV

Pflanze	T e s t p f l a n z e			
	F 12/I	<u>P.avium</u> Slg.	<u>Ch.quinoa</u>	<u>Ch.amaranticolor</u>
1	4/5	3/5	4/5	0/5
2	2/5	3/5	5/5	2/5
3	5/5	2/5	3/5	0/5
4	3/5	5/5	1/5	1/5
5	2/5	3/5	5/5	0/5
6	5/5	3/5	2/5	3/5
7	4/5	4/5	3/5	2/5
8	5/5	2/5	2/5	4/5
9	2/5	5/5	4/5	0/5
10	3/5	1/5	2/5	2/5
Kontrolle	0/5	0/5	0/5	0/5
Summe	35/50	31/50	31/50	14/50
relativ	0,70	0,62	0,62	0,28

Tabelle 11: Die Testsicherheit zum Nachweis des ToSRV

Pflanze	T e s t p f l a n z e		
	<u>P.persica</u>	<u>Ch.amaranticolor</u>	<u>C.ficifolia</u>
1	5/5	2/5	7/10
2	2/5	1/5	6/10
3	3/5	4/5	4/10
4	4/5	2/5	6/10
5	2/5	0/5	8/10
6	5/5	2/5	9/10
7	5/5	2/5	9/10
8	4/5	1/5	4/10
9	3/5	4/5	6/10
10	2/5	2/5	7/10
Kontrolle	0/5	0/5	0/5
Summe	35/50	21/50	63/100
relativ	0,70	0,42	0,63

3. WEITERBEHANDLUNG VON PFLANZENTEILEN NACH EINER WÄRMEBEHANDLUNG

Bei der Thermotherapie ist es nötig, zwei verschiedene Grundreaktionen zu unterscheiden. Bei einigen Virosen, z. B. dem Apfelmosaik, kann die ganze Pflanze, die Terminalknospen der Triebe inbegriffen, vollkommen ausgeheilt werden (POSNETTE und CROPLEY, 1956). Bei anderen Virosen - in diese Gruppe dürfte die Mehrzahl der Obstvirosen eingeordnet werden - hat es sich besser bewährt, nur die Vegetationsspitze abzunehmen, welche am ehesten virusfrei ist. In den nachfolgenden Ausführungen soll über die Methoden der Weiterkultur wärmebehandelten Materials berichtet werden, wie wir sie in unseren Untersuchungen anwendeten.

3.1. Reiserpfpfropfung

Pfropfreiser zweier Kirschsorten, die mit NRV bzw. CRV infiziert waren, wurden im Anschluß an eine Warmwasserbehandlung auf virusfreie Prunus avium F 12/I - Unterlagen gepfropft. Die Unterlagen befanden sich noch in der Winterruhe; die aufgepfropften Reiser waren etwa 15-20 cm lang und mit 3 Knospen besetzt, die Pfpfung erfolgte durch Kopulation. Die veredelten Pflanzen wurden anschließend in feuchten Torfmull eingeschlagen und Anfang März im Freiland aufgepflanzt.

3.2. Okulation

Von wärmebehandelten Pflanzen wurden Knospen (Augen) isoliert und auf angetriebene, virusfreie Prunus avium F 12/I - Unterlagen okuliert. Es wurden sowohl Augen vom Altholz, als auch von neu gebildeten Trieben, die sich während der Wärmebehandlung entwickelt hatten, isoliert. Sofern die Okulationen in der ersten Hälfte des Jahres erfolgten, trieben sie meist im gleichen Jahr bis zu einer Austriebslänge von etwa 50 cm durch. Um gute Anwachsergebnisse zu erzielen, sollten die Unterlagen in einem physiologisch günstigen Zustand sein, die Rinde muß sich während der Okulation leicht vom Holz lösen.

3.3. Stecklingsbewurzelung

Krautige Stecklinge, wärmebehandelten Pflanzen entnommen, wurden unter einer Sprühnebel-Vermehrungsanlage zur Bewurzelung gebracht. Zahlreiche Autoren berichten über die erfolgreiche Anwendung der Sprühnebelvermehrung von Gehölzen (BARTHOLOMAY, 1963; FISCHER, 1969; HARTMANN und LORETTI, 1965; HEFT, 1964; MEYER, 1964; McNEILL, 1963; SCHIMMELPFENG, 1965; SCHÖNBERG, 1961, 1962, 1963, 1965; STOLLE und SCHÖNBERG, 1960 u.a.).

Unsere Zielsetzung war darauf ausgerichtet, möglicherweise virusfreie Stecklinge autovegetativ weiterzuvermehren. Die Versuche wurden mit Material dreier verschiedener Kirschen-Kultursorten ("Hedelfinger", "Schneiders Späte Knorpelkirsche", "Schattenmorelle"), sowie mit zwei Unterlagen (Prunus mahaleb, Prunus avium F 12/I) durchgeführt. SCHIMMELPFENG (1965), SCHÖNBERG (1961, 1962, 1963) u. a. haben in ihren Untersuchungen an verschiedenen Gehölzarten eine klon- bzw. sortenspezifische Bewurzelungswilligkeit festgestellt. Unsere Vorversuche sollten klären, inwieweit die genetische Potenz zur Bewurzelung bei unseren Versuchspflanzen ausgeprägt ist. Des weiteren wollten wir erreichen, Stecklinge so klein wie möglich zur Bewurzelung zu bringen, da durch die Thermo-therapie oft nur kleine Spitzenregionen virusfrei erhalten werden.

Die Sprühnebel-Vermehrungsanlage (ASA-Kurzzeit-Sprühanlage) wurde automatisch geregelt. Die Sprühintervalle waren durch einen Baumwollfaden-Indikator gesteuert, so daß sich die Sprühfolge der Verdunstung anpaßte und eine dauernde Benetzung der Blätter gewährleistet war. Als Kultursubstrat diente uns eine Mischung aus Torf und Sand im Verhältnis 1:1, bessere Ergebnisse wurden in späteren Versuchen mit Perlite (Körnung G, 2/4 mm) erzielt.

Da die Bewurzelung durch Wuchsstoffe stark gefördert werden kann, führten wir Versuche mit β -Indolylessigsäure (IES) und β -Indolylbuttersäure (IBS) durch, um Konzentration und Wirksamkeit zu erfassen. Wir konnten uns hierbei auf Untersuchungen von SCHÖNBERG (1962) mit Prunus mahaleb stützen. Die geprüften

Konzentrationen für IES und IBS waren 500, 1000 und 2000 ppm. Vor dem Stecken wurden die Stecklinge - wir verwendeten ausschließlich Kopfstecklinge - mit den Schnittstellen zwei Minuten lang in die Wuchsstofflösung getaucht. Nach dem Tauchen wurden sie solange an der Luft gelagert, bis die Tauchstellen völlig abgetrocknet waren, anschließend daran erfolgte das Stecken in das Substrat. 5 Wochen nach dem Stecktermin wurden sie auf ihre Bewurzelung bonitiert. Folgende Daten wurden erfaßt:

a) Anteil bewurzelter Stecklinge

b) Stärke der Bewurzelung nach der Skala:

0 = keine Bewurzelung

9 = sehr gute Bewurzelung, mindestens drei Wurzeln
über 10 cm.

Stecklinge, die Boniturnoten über 5 erhielten, wurden als gut bewurzelt in der Tab. 12 gesondert herausgestellt, sie sind mit der Bezeichnung GW gekennzeichnet.

In der Tab. 12 werden die Ergebnisse der Wuchsstoffbehandlung wiedergegeben. Kirschen, besonders aber Kultursorten der Kirsche, haben nur eine geringe Bewurzelungswilligkeit. Es muß darauf hingewiesen werden, daß in diesen orientierenden Vorversuchen die Stecklinge nicht wärmebehandelten Pflanzen entstammten, sondern Bäumen entnommen worden waren, die im Freiland wuchsen.

Die Bewurzelungspotenz der drei Kultursorten "Hedelfinger", "Schneiders Späte Knorpelkirsche" und "Schattenmorelle" ist nur gering ausgeprägt. Ohne jegliche Wuchsstoffbehandlung bewurzelt sich nur selten ein Steckling. IES und IBS hatten einen stark fördernden Effekt auf die Wurzelbildung, besonders in den hohen Konzentrationsstufen von 1000 und 2000 ppm. IBS erwies sich gegenüber IES überlegen, wie das auch schon NOURBACHSCH (1968) nachweisen konnte. Die Bewurzelungspotenz der Unterlagenstecklinge ist größer als die der Kultursorten. Bei ihnen tritt eine raschere Wurzelbildung ein. Während besonders die beiden Süßkirschensorten erst größere Kalluswülste um die Schnittstellen bilden, aus denen dann später Adventivwurzeln erscheinen, unterbleibt bei den Unterlagen diese Kallusbildung zugunsten einer

rascheren Wurzelentwicklung. An den beiden Unterlagen kam die Überlegenheit von IBS gegenüber IES besonders deutlich zum Ausdruck.

Tabelle 12: Der Einfluß von Wuchsstoffen auf die Bewurzelung von Kirschenstecklingen

Sorte/Art	Behandlung ¹⁾	gesteckt	bewurzelt absolut	rela- tiv	GW ²⁾ (%)
Hedelfinger	0	50	4	8	0
	500 ppm IES	50	12	24	6
	1000 ppm IES	50	19	38	11
	2000 ppm IES	50	20	40	12
	500 ppm IBS	50	18	36	9
	1000 ppm IBS	50	23	46	14
	2000 ppm IBS	50	27	54	17
Schneiders Späte Knorpel- kirsche	0	50	0	0	0
	500 ppm IES	50	8	16	3
	1000 ppm IES	50	12	24	11
	2000 ppm IES	50	16	32	14
	500 ppm IBS	50	13	26	13
	1000 ppm IBS	50	17	34	16
	2000 ppm IBS	50	21	42	19
Schattenmorelle	0	50	2	4	0
	500 ppm IES	50	10	20	7
	1000 ppm IES	50	16	32	12
	2000 ppm IES	50	20	40	14
	500 ppm IBS	50	13	26	9
	1000 ppm IBS	50	33	66	19
	2000 ppm IBS	50	39	78	34
<u>Prunus avium</u> F 12/I	0	50	11	22	0
	500 ppm IES	50	19	36	12
	1000 ppm IES	50	32	64	16
	2000 ppm IES	50	35	70	19

Fortsetzung Tabelle 12:

Sorte/Art	Behandlung ¹⁾	gesteckt	bewurzelt		GW ²⁾ (%)
			absolut	relativ	
	500 ppm IBS	50	22	44	11
	1000 ppm IBS	50	41	82	16
	2000 ppm IBS	50	37	74	21
<u>Prunus mahaleb</u>	0 ppm IES	50	9	18	4
	500 ppm IES	50	16	32	10
	1000 ppm IES	50	21	42	17
	2000 ppm IES	50	26	52	13
	500 ppm IBS	50	19	38	8
	1000 ppm IBS	50	35	70	22
	2000 ppm IBS	50	35	70	20

1) IES = β -Indolylessigsäure, IBS = β -Indolylbuttersäure

2) GW = gut bewurzelt (s. Text)

Neben der reinen Bewurzelungspotenz der Sorten und Unterlagen interessierte uns weiterhin der Einfluß der Größe eines Stecklings auf die Wurzelbildung. In Tab. 13 sind die Ergebnisse zu dieser wichtigen Frage wiedergegeben. Stecklinge von Pflanzen, die einer 60tägigen Wärmebehandlung bei 38°C ausgesetzt waren, wurden geerntet, mit 2000 ppm IBS behandelt und gesteckt. Als Stecklingslängen wurden 9,6 und 3 cm gewählt.

Im Gegensatz zu den in Tab. 12 aufgezeigten Werten bewurzeln sich Stecklinge wärmebehandelter Pflanzen etwas schlechter. Das ist auch verständlich wenn man bedenkt, daß die Mutterpflanzen 60 Tage in einem Raum gehalten wurden, der nicht ihren natürlichen Lebensbedingungen entsprach. Stecklinge von 9 und 6 cm Länge sind mit gutem Erfolg zu bewurzeln, bei den 3 cm langen Stecklingen traten hohe Verluste ein, die sowohl durch Fäulniserreger als auch durch natürliche Substanzarmut bedingt waren.

Prunus mahaleb war den beiden Sorten hinsichtlich der Bewurzelungspotenz deutlich überlegen, wenngleich auch zwischen "Schattenmorelle" und "Hedelfinger" deutliche Unterschiede vorhanden waren.

Tabelle 13: Der Einfluß der Stecklingslänge auf die Bewurzelungsfähigkeit (Stecklinge von Pflanzen, die einer 60tägigen Wärmebehandlung ausgesetzt waren).

Sorte/Art	Behandlung	Stecklingslänge (cm)	gesteckt	bewurzelt absolut	relativ	GW%
Hedelfinger	2000 ppm IBS	9	39	11	28	11
	2000 ppm IBS	6	42	13	31	11
	2000 ppm IBS	3	53	9	17	7
Schattenmorelle	2000 ppm IBS	9	32	16	50	14
	2000 ppm IBS	6	47	19	40	9
	2000 ppm IBS	3	64	12	19	5
<u>P.mahaleb</u>	2000 ppm IBS	9	29	17	59	20
	2000 ppm IBS	6	37	21	57	21
	2000 ppm IBS	3	52	17	33	9

Entscheidend für den Grad der Bewurzelung sind nach FISCHER (1969) und SCHÖNBERG (1962) der juvenile Zustand der verwendeten Triebe, die genotypische Potenz zur Adventivwurzelbildung und der physiologische Zustand der Triebe zur Zeit des Stecklings-schneidens. Der physiologische Zustand der Triebe nach einer Wärmebehandlung muß aber als negativ im Sinne einer autovegetativen Weitervermehrung angesehen werden. Die Triebe sind dünner und kürzer als solche, die unter normalen Bedingungen wachsen, sie verholzen schneller, und die Nodien sind sehr mangelhaft ausgebildet.

Aus den Untersuchungen wird ersichtlich, daß auch Stecklinge von Kultursorten, die sich unter den für die Pflanze negativen Bedingungen einer Hitzekabine entwickelten, zur Bewurzelung

gebracht werden können. Über die Virusfreiheit der Stecklinge wird an anderer Stelle zu berichten sein.

3.4. Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung)

GARNER (1959)⁶ beschrieb erstmals eine Pfropfmethode, die es erlaubte, grüne und unverholzte Spitzentriebe ("tips"), welche wärmebehandelten Pflanzen entstammten, auf virusfreien Unterlagen zum Weiterwachsen zu bringen. Diese Methode, die sogenannte "Grünpfropfung", gilt heute als die zuverlässigste Art der Weitervermehrung virusfreien Materials bei Obstgehölzen (CAMPBELL, 1961).

6 bis 8 Wochen vor der zu erwartenden Ernte der Triebspitzen wurden gesunde Unterlagen, die während des ganzen Jahres in einem Kühlraum bei 2°C gelagert wurden, getopft. Die Pflanzen wurden eintriebzig angezogen, um damit einen starken Einzeltrieb zu erzielen. Nach 6 - 8 Wochen hatte sich ein etwa 60 bis 100 cm langer Neutrieb entwickelt, der im oberen Drittel noch völlig unverholzt war. In diese unverholzte Zone wurde nun die weiterzuvermehrnde Triebspitze gepfropft.

Die Triebspitze hatte eine Länge von 1 - 2 cm, nur die oberen Blättchen wurden ihr belassen. Sie wurde mit einer Rasierklinge keilförmig zugeschnitten, so dann wurde die Spitze der Unterlage entfernt, in die unverholzte Zone kam ein gerader, senkrechter Schnitt, so daß der obere Abschnitt in zwei gleiche Hälften aufklappte. Dazwischen wurde die keilförmig angeschnittene Triebspitze eingesetzt. Mit einem selbstklebenden, elastischen Kautschukband (Stericrepe, Fa. Beacon und Janis, London) wurde die Pfropfstelle umschlossen. Um Pilzbefall zu vermeiden, besprühten wir die obere Region mit einem Fungizid (Orthocid 50,2 %). Die gepfropfte Spitze umhüllten wir mit einem kleinen Polyäthylenbeutel, um eine hohe Luftfeuchtigkeit zu erreichen und ein vorzeitiges Welken und Vertrocknen zu verhindern.

Die so gepfropften Pflanzen wurden im Gewächshaus in einem ge-

kühlten Raum, in welchem die Temperatur 20°C nicht überschritt, aufgestellt. Nach 20 Tagen war die Pfropfung soweit verwachsen, daß die Polyäthylenbeutel entfernt werden konnten. Für eine hohe Luftfeuchtigkeit war aber weiterhin zu sorgen. Etwa einen Monat nach erfolgreicher Verwachsung beginnen die Triebspitzen durchzutreiben, sie können dann langsam den Normalbedingungen eines Gewächshauses angepaßt werden.

In unseren Untersuchungen konnten mit dieser Methode Anwachsergebnisse zwischen 30 und 70 % erzielt werden. An Sauerkirsche ("Schattenmorelle") waren die Anwachsergebnisse besser als an Süßkirsche ("Hedelfinger", "Schneiders Späte Knorpel"); auch Pfirsichspitzen wurden erfolgreich gepfropft.

Entscheidend bei dieser Methode ist aber ein gekühlter, heller Standort im Gewächshaus während der Zeit des Verwachsens. Einmalige Temperaturerhöhungen über 25°C können den Verwachsungserfolg stark beeinflussen und zu einem Vertrocknen der Triebspitzen führen.

Nach erfolgtem Verwachsen der Partner erreichen die Triebspitzen oft noch Austriebslängen von mehr als 50 cm im gleichen Jahr, so daß für nachfolgende Tests genügend Pflanzenmaterial zur Verfügung stand. Unter günstigen Gewächshausbedingungen können derartige Grünpfropfungen von Frühjahr bis in den späten Herbst hinein durchgeführt werden.

3.5. Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro

Eine wichtige Methode zur Ausschaltung pflanzlicher Viren hat sich aus der Gewebekultur entwickelt. WHITE (1934) konnte in Versuchen mit Wurzelkulturen des Tabaks zeigen, daß das apikale Gewebe deutlich weniger TMV enthielt als älteres Gewebe, in dem sich bereits Streckungs- und Differenzierungsvorgänge ereignet hatten. Ähnliche Verhältnisse konnten LIMASETT, CORNUET und GENDRON (1949) in Sproß- und Wurzelmeristemen von Tabak- und Tomatenpflanzen nachweisen. MOREL und MARTIN (1952) gingen

in ihren Untersuchungen von der Hypothese aus, daß das Spitzenmeristem von Pflanzen virusfrei ist und setzten erstmals die Gewebekulturtechnik zur Erzielung gesunder Tochterpflanzen aus virusverseuchten Elternpflanzen ein. Sie isolierten etwa 250 μ lange Spitzenmeristeme aus Terminalknospen einer am Dahlienmosaikvirus erkrankten Dahliensorte und kultivierten diese aseptisch auf einem Nährmedium, das im wesentlichen auf dem WHITE'schen Medium basierte. Nach einigen Monaten bildeten sich kleine beblätterte Sprosse, die sie erfolgreich auf junge, virusfreie, in Erdkultur gehaltene Dahlienpflanzen pflanzen konnten. Später wieder von der Pfropfverbindung gelöst, entwickelten sich gesunde Pflanzen ohne Mosaikerscheinungen, deren Virusfreiheit sie mehrmals serologisch nachweisen konnten. In späteren Experimenten gelang es beiden Autoren, aus Apikalmeristemen verschiedener Kartoffelsorten, die mit den Kartoffelviren A, Y und X verseucht waren, gesunde Klone zu züchten (MOREL und MARTIN, 1955).

Wir wissen zwar heute, daß Apikalmeristeme von Sproß und Wurzel viruskranker Pflanzen nicht unbedingt virusfrei sein müssen (NORRIS, 1953; 1954; SCHMELZER, 1960; KASSANIS, 1957; WALKEY und WEBB, 1968), daß sie jedoch stets virusärmer sind als die anschließenden Sproß- und Wurzelregionen.

HOLMES (1948, 1955) konnte nachweisen, daß verschiedene Viren verhältnismäßig stark hinter dem Wachstum des Vegetationskegels zurückbleiben, obwohl sie zur systemischen Infektion befähigt sind. Er kultivierte mehrere Zentimeter lange symptomlose Triebenden von Dahlienpflanzen, die mit dem Bronzefleckenvirus infiziert waren, in normaler gärtnerischer Stecklingskultur und konnte virusfreie Individuen daraus erzielen.

Seit diesen Anfängen der Meristemkultur konnte eine Vielzahl von Pflanzenviren erfolgreich eliminiert werden, wobei besonders im Zierpflanzenbau die Meristemkultur eine praktische Bedeutung erlangte (BAKER und PHILIPS, 1962; BRIERLEY, 1962; HOLLINGS, 1962 a+b; HOLLINGS und KASSANIS, 1957; HOLLINGS und STONE, 1968;

HOLMES, 1955, 1956; KASSANIS, 1957; STONE, 1963; TOMSEN, 1958 u. a.). An Gehölzen und Halbgehölzen wie Baumwolle, Hopfen, Reben und Beerenobst konnten CHAPPELL und MAUNEY (1967), JONES und VINE (1968), VINE und JONES (1969) sowie GALZY (1969) mit dieser Methode erfolgreich arbeiten. WINTON (1968 a+b) gelang es erstmals an Populus tremuloides Michx., aus einem undifferenzierten Kallusstück Sproß- und Wurzelsystem und somit eine intakte Pflanze zu erzeugen.

Sehr gute Ergebnisse hinsichtlich der Virusfreiheit wurden dann erzielt, wenn die Meristem- bzw. Triebspitzenkultur mit einer vorgeschalteten Wärmebehandlung der Pflanzen verbunden war (QUAK, 1957; THOMSEN, 1958; HOLLINGS, 1965; ten HOUTEN et al., 1968; u.a.). Durch dieses Verfahren gewinnt man längere virusfreie Zonen und kann ganze Sproßspitzen, die auf einem Nährboden leichter kultiviert werden können als Apikalmeristeme, isolieren. Besonders bei schwer zu eliminierenden Viren hat sich dieses Verfahren bewährt.

In unseren eigenen Experimenten sollte der Versuch unternommen werden, Meristeme und Triebspitzen von Steinobstpflanzen auf einem aseptischen Nährboden weiterzukultivieren. Wir wollten in den Versuchen prüfen, ob Meristeme oder kleinere Triebspitzen in mehrwöchiger Kultur zur Eigenbewurzelung zu bringen bzw. soweit zu vergrößern sind, daß sie auf eine virusfreie Unterlage übergepfropft werden können. Dazu waren ausgedehnte Vorversuche nötig, die im Folgenden dargestellt werden sollen.

3.5.1. Sterilisation, Präparation und Kulturbedingungen

Die Versuche führten wir mit zwei Kultursorten ("Schattenmorelle", "Hedelfinger") und einer Unterlage (Prunus avium F 12/I) der Kirsche durch. Es handelte sich bei den Vorversuchen um Material, das von gesunden Bäumen, die im Freiland wuchsen, gewonnen wurde.

Die Triebspitzen wurden den Pflanzen in einer Länge von 1 - 2 cm entnommen und von größeren Blättern befreit. Anschließend kamen

sie in eine Desinfektionslösung, der ein Benetzungsmittel (Pril) zugesetzt war. Die allgemein verwendete schwache Sublimatlösung (HgCl-Lösung) führe an unserem Material in den verschiedensten Konzentrationen zu schweren Gewebeschädigungen, so daß auf sie verzichtet werden mußte. Wir verwendeten mit gutem Erfolg eine 1 %ige Na-hypochloritlösung, in die die Triebspitzen 30 Minuten lang gelegt wurden. Danach kamen sie eine Stunde in sterilisiertes, destilliertes Wasser und wurden dann bis zur weiteren Verarbeitung in einer sterilisierten Petrischale aufbewahrt.

Die Entnahme der Meristeme bzw. Triebspitzen erfolgte mit einem Augenskalpell unter dem Binokular in einem Impfraum, der weitgehend keimfrei war.

Unter dem Binokular entfernt man nacheinander die jüngsten Blätter, bis der Vegetationskegel freigelegt ist und abgetrennt werden kann. Wir verwendeten in unseren Untersuchungen:

- a) isolierte Meristeme (ca. 0,5 mm Ø),
- b) Meristeme mit 2-3 Blattprimordien (ca. 1 mm),
- c) Meristeme mit etwa 2 bis 3 Blattprimordien und 2 ausdifferenzierten Blättchen (ca. 3-5 mm).

Mit Hilfe des Skalpells wurde das kleine abgetrennte Stück aufgenommen und auf ein Nährsubstrat gebracht, das zuvor im Autoklaven sterilisiert worden war. Wir verwendeten zunächst Reagenzgläser ("Firolax", 25 mm Ø, 150 mm Länge), nach 5 Wochen wurden die wachsenden Meristeme bzw. Triebspitzen in 100 ml Erlenmeierkolben umgesetzt. Die Kulturgefäße wurden mit Wattepfropfen verschlossen; um eine zu rasche Austrocknung des Nährbodens zu verhindern, zogen wir zusätzlich über jedes Gefäß eine selbstklebende Folie ("Parafilm").

Die so beschickten Gefäße wurden bei 22°C und künstlicher Belichtung (5000 Lux) in einem Klimaschrank zur Weiterkultur aufgestellt. Sie standen unter Langtagbedingungen (16 h Belichtung), um das vegetative Wachstum anzuregen.

Für jedes zu prüfende Nährsubstrat beschickten wir 20 Gefäße mit den entsprechenden Apex teilen. Trotz der Sterilisation mit Na-Hypochlorit mußten Kontaminationen von 30 bis 50 % eingeplant werden, so daß im ungünstigsten Falle 10 beschickte Gefäße für die weiteren Beobachtungen zur Verfügung standen. Zeigten mindestens 5 Kulturen eine einheitliche Tendenz, so erhielt diese Versuchsvariante die entsprechende Signatur, wie sie aus den Abb. 3, 4 und 5 ersichtlich sind.

3.5.2. Zusammensetzung des Nährbodens

Die von uns verwendeten Nährböden waren in ihrer anorganischen, organischen und vitaminösen Komponente stets gleichbleibend, variiert wurden lediglich die zugesetzten Phytohormone.

Die anorganische und Teile der organischen Komponente waren in Anlehnung an die Versuche zur Gewebekultur von MURASHIGE und SKOOG (1962) sowie LINSER und NEUMANN (1968) und NEUMANN (1968) gewählt worden; die ersteren arbeiteten mit Geweben von Nicotiana tabacum, die letzteren mit Gewebekulturen von Daucus carota.

a) Anorganische Komponente	mg/l
Makronährstoffe: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	400
$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$	100
KNO_3	300
KCl	80
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	100
KH_2PO_4	100
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	50
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	100
Fe-EDTA	20
Mikronährstoffe: $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,1
H_3Bo_3	0,05
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,2
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,05
KJ	0,5
$\text{NiSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,1
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,1

b) organische Komponente:	<u>mg/l</u>
Caseinhydrolysat	200
Hefeextrakt	50
Glucose	20 g/l
Agar-Agar (Difco)	7 g/l
c) Vitamine und Aminosäuren:	
Thiamin	0,1
Nicotinsäure	0,5
Pyridoxin	0,2
Glycin	0,1
Adenin	0,5
Ascorbinsäure	0,5
d) Phytohormone:	
B-Indolylessigsäure (IES)	0; 0,5; 1; 5
6-Furfurylaminopurin (Kinetin)	0; 0,1; 1,0
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4 D)	0; 0,05; 0,5; 1,0
myo-Inositol	0; 25; 50; 100
Gibberellin A ₃	0; 0,1; 0,5; 1,0

In Tabelle 14 sind die verschiedenen Kombinationen der Wachstoffsstoffkomponente angegeben, wie wir sie in unseren Versuchen prüften.

Das zubereitete Nährsubstrat kochten wir kurz auf, um die einzelnen Komponenten in Lösung und in eine gute Durchmischung zu bringen, anschließend stellten wir es auf pH 7 ein. Die optimalen pH-Bereiche der Nährböden für Gewebekulturen liegen im schwach sauren Bereich, bei etwa 6,3 bis 6,5. Wir stellten unseren Nährboden vor dem Autoklavieren auf pH 7 ein, da wir die Feststellung treffen konnten, daß der pH-Wert nach dem Autoklavieren und Erkalten stets um 0,5 bis 0,7 zurückging und dann den gewünschten Grad erreichte.

Tabelle 14: Variationen der Nährbodenzusammensetzung (Wuchsstoffkomponente) für die Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro.

Medium Nr.	Wuchsstoffe (mg/l)				
	IES	Kinetin	2,4 D	GA 3	myo-Inositol
1	0,5	0,1	0,05	0,1	25
2	1,0	0,1	0,05	0,1	25
3	5,0	0,1	0,05	0,1	25
4	0,0	0,1	0,05	0,1	25
5	0,5	1,0	0,5	0,5	50
6	1,0	1,0	0,5	0,5	50
7	5,0	1,0	0,5	0,5	50
8	0,0	1,0	0,5	0,5	50
9	0,5	0,0	1,0	1,0	100
10	1,0	0,0	1,0	1,0	100
11	5,0	0,0	1,0	1,0	100
12	0,0	0,0	1,0	1,0	100
13	0,5	0,1	0,05	0,0	50
14	1,0	0,1	0,05	0,0	50
15	5,0	0,1	0,05	0,0	50
16	0,0	0,1	0,05	0,0	50
17	1,0	0,1	0,5	1,0	25
18	1,0	0,1	0,5	1,0	50
19	1,0	0,1	0,5	1,0	100
20	1,0	0,1	0,5	1,0	0

3.5.3. Triebspitzenwachstum in Abhängigkeit von der Nährboden- zusammensetzung

In der Pflanzenphysiologie haben Versuche mit Gewebekulturen eine große Bedeutung erlangt. So konnte man mit ihrer Hilfe morphogenetische Studien betreiben, andererseits aber auch den Einfluß verschiedener Nährstoffe, Phytohormone, Vitamine, Aminosäuren und Inhibitoren in ihrer physiologischen Wirkung exakter erfassen. In unseren Versuchen stand ein sehr aktueller

und praxisnaher Gesichtspunkt im Vordergrund, die Bewurzelung und Vergrößerung kleinster Apex-Teile. Dieser Umstand veranlaßte uns, besonders der Wachstoffsstoffkomponente im Nährmedium Aufmerksamkeit zu schenken, da gerade ihr eine große Bedeutung für Streckungs- und Differenzierungsvorgänge an den isolierten Sproßteilen zukommt.

Die Ergebnisse mit 20 verschiedenen Nährbodenzusammensetzungen sind in Abb. 3 wiedergegeben.

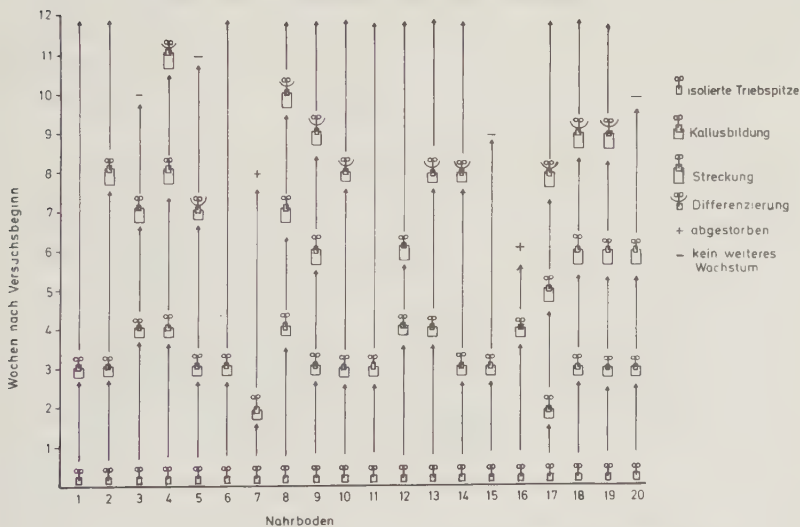


Abb. 3: Der Einfluß verschiedener Phytohormone in unterschiedlicher Konzentration auf den Wuchsverlauf isolierter Triebspitzen der Kirschenunterlage Prunus avium F 12/1 in vitro.

In diesen Versuchen sollte zunächst der Einfluß auf Bewurzelungs- Differenzierungs- und Streckungsprozesse geprüft werden. Der Beobachtungszeitraum betrug 12 Wochen. Auf keinem Nährboden konnten wir eine Eigenbewurzelung der Triebspitzen von Prunus avium

F 12/1 erzielen, wohl aber auf verschiedenen Medien ein Weiterwachsen im Sinne einer Streckung und Differenzierung. Nährböden, die nur Kallusbildung an der Schnittstelle der Sproßspitze auslösten und keine Differenzierungsvorgänge erkennen ließen, wurden nicht weiter geprüft; sie waren für unsere Belange nicht brauchbar. Positive Hinweise in unserem Sinne erbrachten die Nährböden 2, 4, 5, 8, 9, 10, 13, 14, 17, 18 und 19, sie wurden einer weiteren Prüfung unterzogen.

Wie bereits erwähnt, wurden neben Triebspitzen auch Meristeme und Meristeme mit Blattprimordien auf den verschiedenen Medien geprüft. In Abb. 4 werden die Ergebnisse dargestellt.

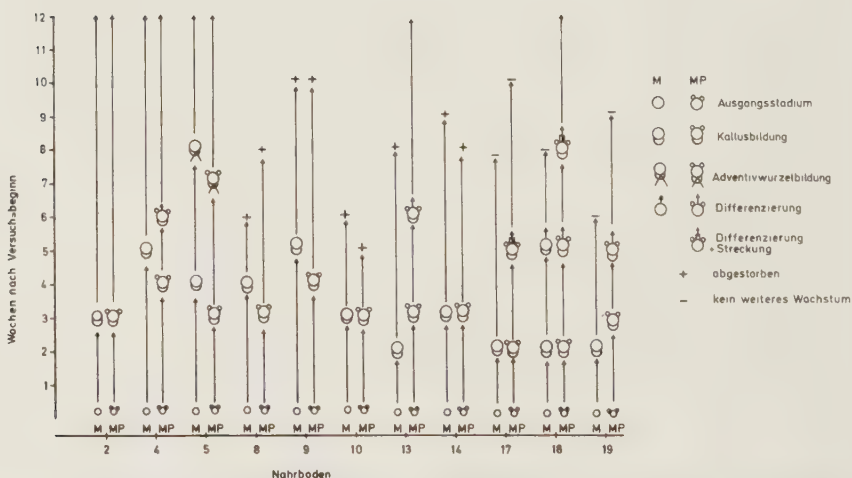


Abb. 4: Der Einfluß verschiedener Phytohormone in unterschiedlicher Konzentration auf den Wuchsverlauf isolierter Meristeme (M) und von Meristemen mit Blattprimordien (MP) der Kirschenunterlage *Prunus avium* F 12/I in vitro.

In einem Falle (Medium 5) konnte nach 7 Wochen eine Adventivwurzelbildung aus dem Kallus beobachtet werden. Allerdings erzielten wir mit diesem Medium keine Differenzierung des Vegetationskegels. Auffällig war bei allen geprüften Varianten, daß isolierte Meristeme zwar zu einer raschen Kallusbildung befähigt sind, Differenzierungs- und Streckungsvorgänge aber nur auf einem Nährboden (Medium 18) erreicht wurden, während Meristeme mit Blattprimordien sowie Triebspitzen günstigere Voraussetzungen schufen. Besonders die Medien 17 und 18 waren geeignet, die von uns gewünschte Differenzierung und Streckung zu induzieren. In ihnen schienen die Phytohormone in einem ausgewogenen Verhältnis zueinander zu stehen, so daß nach einer frühzeitig einsetzenden Kallusbildung (10 - 14 Tage nach Kulturbeginn) auch eine Differenzierung des Vegetationskegels, d. h. Ausbildung kleiner Blättchen mit nachfolgendem Streckungswachstum, eintrat.

Die isolierten Meristeme mit Blattprimordien erreichten in 12wöchiger Kultur Längen von 10 bis 15 mm, ihre Pfropfung auf virusfreie Unterlagen wurde somit ermöglicht, wenngleich sie in ihrem Wachstum hinter den isolierten Sproßspitzen klar zurückblieben.

In der Abb. 5 sind die Ergebnisse über den Wuchsverlauf isolierter Meristeme mit Blattprimordien und Triebspitzen in vitro dargestellt. Das Material entstammte wärmebehandelten, NRV-kranken Pflanzen zweier Kultursorten und der Unterlage Prunus avium F 12/I. Die Zahl unter der Signatur gibt die Länge in mm in Abhängigkeit von der Kulturdauer wieder. Die Zahl entspricht dem Durchschnittswert aus 10 bis 20 Einzelproben, die Messungen erfolgten wöchentlich.

Werden Triebspitzen nach einer Wärmebehandlung isoliert und in vitro kultiviert, so ist ihr Wachstum rascher als das der unter normalen Bedingungen gewachsenen Triebspitzen. Unter den Bedingungen von 38°C ist das Längenwachstum sehr stark eingeschränkt, die Nodien, wenn auch ungenügend ausgeprägt und entwickelt, drängen sich auf engstem Raum. Unter den Bedingungen der Kultur in vitro kommt es zu einem gewissen "Nachholeffekt".

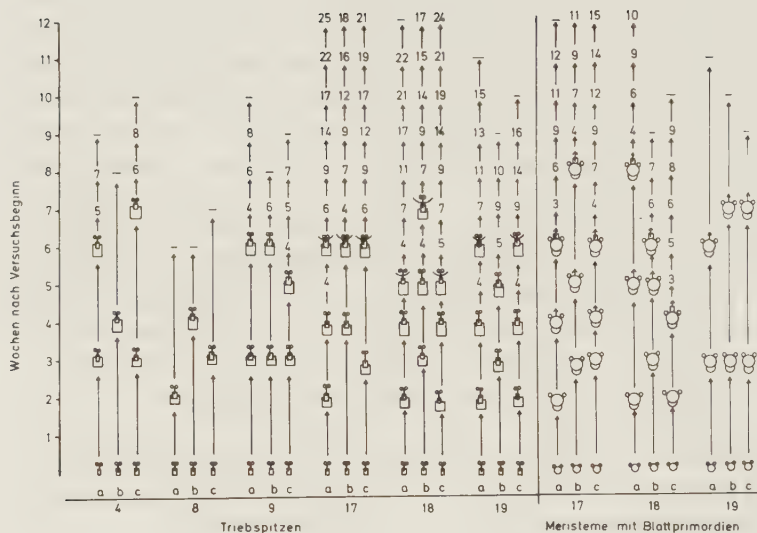


Abb. 5: Der Wachstumsverlauf isolierter Triebspitzen und von Meristemen mit Blattprimordien von *Prunus avium* F 12/I (a), sowie der Kirschen-Kultursorten "Hedelfinger" (b) und "Schattenmorelle" (c) in vitro. Entnahme von NRV-kranken Mutterpflanzen nach 60tägiger Wärmebehandlung bei 38°C (Zeichenerklärung s. Abb. 3 und 4).

Streckungs- und Differenzierungsvorgänge sind stärker zu beobachten, während die Kallusbildung aufgrund der stärkeren Lignifizierung in den Sproßspitzen weniger stark gefördert wird, Verhältnisse, die durchaus den von uns gewünschten Zielen entsprechen. Die günstigsten Ergebnisse erzielten wir mit den Medien 17 und 18 sowohl an Sproßspitzen, als auch an Meristemen mit Blattprimordien; Wuchslängen von 25 bzw. 15 mm konnten erzielt werden.

Die Sortenunterschiede sind deutlich ausgeprägt, *Prunus avium* F 12/I und "Schattenmorelle" waren raschwüchsiger als "Hedel-

finger". Über die Virusfreiheit des Materials wird an anderer Stelle zu berichten sein.

3.5.4. Pfropfung auf gesunde Unterlagen

Entsprechend der in Abschnitt 2.4.4. aufgeführten Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung) wurden auch die in vitro vergrößerten Apex-Teile auf virusfreie Unterlagen gepfropft, wobei die gleiche Technik angewendet wurde. Die Anwachsergebnisse waren zwar gering (10 - 20 %), einzelne Pflanzen können aber auf diesem Wege durchaus gewonnen werden.

4. WARMWASSERBEHANDLUNG VIRUSKRANKER PFROPFREISER (KURZZEIT-THERAPIE)

Die in Tab. 1 zusammengestellten positiven und negativen Ergebnisse von Warmwasserbehandlungen an Pflanzen und Pflanzenteilen veranlaßten uns, auch dieses therapeutische Verfahren an Pfropfreisern der Kirsche zu prüfen.

4.1. Wärmetoleranz der Pfropfreiser

Pfropfreiser der Kirschensorten "Hedelfinger" und "Schattenmorelle", die wir im Januar den Bäumen entnahmen, wurden einer Warmwasserbehandlung unterzogen. In einem Vorversuch mußte zunächst geklärt werden, welche Temperaturen und Behandlungszeiten von den Reisern ohne nennenswerte Schädigungen ausgehalten werden. 10 Pfropfreiser von 30 cm Länge wurden in einen Kunststoffzylinder gebracht, der von warmem Wasser konstanter Temperatur durchflutet wurde. Dieser Kunststoffzylinder war an einen Ultrathermostaten angeschlossen, an dem die gewünschte Temperatur mittels eines Kontaktthermometers eingestellt werden konnte. Nach der Behandlung erfolgte eine Abkühlung der Reiser unter Leitungswasser, sodann stellten wir sie in Wassergefäßen im Gewächshaus auf. In den kommenden Wochen sollte anhand des Austriebes der Reiser der Schädigungsgrad durch die Behandlung festgestellt werden. Folgendes Beurteilungsschema wurde verwendet:

- 1 Totale Schädigung, Knospen und Kambium verbräunt, kein Austrieb,
- 2 Schädigungen an Knospen und Kambium, Knospen öffnen sich noch, kein Austrieb,
- 3 Schädigungen an den Knospen, kein Austrieb,
- 4 Geringfügige Schädigung der Knospen, Bräunung der Hüllblätter, Knospen treiben aber aus,
- 5 Keine Schädigungen an Knospe und Holz, Knospen treiben aus, Verhalten wie unbehandelte Kontrolle.

Des weiteren wurden die Reiser nach ihrer Stärke in drei Klassen eingeteilt:

dünn:	0,2 - 0,4 mm Ø
mittel:	0,4 - 0,6 mm Ø
dick:	0,6 - 0,8 mm Ø

In Tab. 15 sind die Ergebnisse der Temperaturverträglichkeitsprüfung wiedergegeben. Ihr kann entnommen werden, daß Kirschenreiser bei Temperaturen über 52°C stark geschädigt werden. Die Unterschiede zwischen den beiden geprüften Sorten waren nur geringfügig, "Hedelfinger" erwies sich hinsichtlich der Behandlungslänge etwas robuster als "Schattenmorelle". Auffällig war die Beobachtung, daß die Reiser der dicken Kategorie (0,6 - 0,8 mm Ø) die Behandlung in den kritischen Temperaturbereichen besser vertrugen als die der dünnen.

4.2. Möglichkeiten der Virusinaktivierung

In nachfolgenden Versuchen wurden CRV-krank Reiser der Sorte "Hedelfinger" und NRV-krank Reiser der Sorte "Schattenmorelle" einer Warmwasserbehandlung unterzogen. Im Anschluß an die Warmwasserbehandlung wurden sie auf virusfreie Prunus avium F 12/I gepfropft und im März im Freiland zur weiteren Beobachtung aufgepflanzt.

In den Tabellen 16 und 17 werden die Ergebnisse aufgezeigt, die wir aus den Versuchen zur Warmwasserbehandlung von Pfropfreisern erhielten. Bei den NRV-kranken Reisern von "Schattenmorelle" prüften wir 28 Zeit/Temperatur-Varianten, bei den CRV-kranken von "Hedelfinger" 23 Zeit/Temperatur-Varianten. Die Pflanzen wurden zu den Terminen Mitte Mai, Mitte Juni und Mitte Juli auf Symptome bonitiert. Symptomlose Pflanzen unterzogen wir dem "Shiروفугентест" (Knospenentnahme Mitte Juli); sofern dieser Test negativ verlief, d. h. kein Virus nachgewiesen werden konnte, erfolgte 6 Wochen später eine weitere Knospenentnahme für einen zweiten "Shiروفугентест" (Knospenentnahme Mitte August). Gleichzeitig wurden Triebspitzen von den Pflanzen entnommen, die sich im ersten Shiروفугентест als nicht viruskrank erwiesen hatten, und auf virusfreie Unterlagen gepfropft. Auch sie wurden weiterhin auf die beiden Ringfleckenviren getestet.

Tabelle 15: Die Wärmeverträglichkeit von Pfropfreisern der Kirschenorten "Hedelfinger" (H) und "Schattenmorelle" (S) im Warmwasserbad (1-5 = Schädigungsgrad; vgl. Text)

Temp. °C	Behandlungsdauer (Min.)											
	5	10	20	30	40	50	60	120	180	240	300	360
	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S	H S
40	-	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	4 4	2 4	1 3
42	-	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	4 4	2 3	2 3	1 2
44	-	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	4 4	5 5	2 3	1 2	1 1	1 1
46	-	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1
48	-	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	1 1	1 1	1 1	1 1	-	-
50	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	1 1	1 1	-	-	-	-
52	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	1 1	1 1	-	-	-	-
54	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	5 5	1 1	1 1	-	-	-	-
56	2 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	-	-	-	-	-	-
58	1 1	1 1	1 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	1 1	1 1	1 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- = nicht geprüft

□ = weitere Prüfung mit viruskranken Reisern

Tabelle 16: Ergebnisse der Warmwasserbehandlung von Reisern der Sorte "Schattenmorelle", Virus: NRV (Stecklenberger Krankheit)

Proben-Nr.	Temp. °C	Beh.Dauer Minuten	Veredl.	angew.Veredl.	Sympt.	1. Test	2. Test
1	40	60	10	7	7+2 ¹⁾		
2	40	120	10	6	6+4		
3	40	180	10	6	6+2		
4	42	60	10	5	5+3		
5	42	120	10	4	4+4		
6	42	180	10	5	5+2		
7	44	20	10	9	7+1		
8	44	30	10	8	7+1		
9	44	40	10	6	5+3		
10	44	50	10	8	7+0		
11	44	60	10	4	4+3		
12	44	120	10	4	3+4		
13	46	10	10	5	3+2		
14	46	20	10	4	4+3		
15	46	30	10	4	4+2		
16	46	40	10	5	3+4		
17	46	50	10	3	3+2		
18	46	60	10	4	3+3		
19	48	10	10	6	0+0	6+ ²⁾	
20	48	20	10	4	1+0	4+	
21	48	30	10	2	0+0	2+	
22	50	10	10	4	0+0	4+	
23	50	20	10	2	0+0	2+	
24	50	30	10	1	0+0	1+	
25	52	10	10	3	0+0	2+1-	1+ ²⁾
26	52	20	10	0	0+0		
27	54	5	10	2	0+0	1+1-	2+
K.inf. ³⁾	-	-	10	8	7+2		
K.ges. ⁴⁾	-	-	10	9	0+0	10-	10-

- 1) 1. Zahl = Symptome an der angewachsenen Veredlung,
2. Zahl = Symptome an der Unterlage, Reis nicht angewachsen.
- 2) + = positive Reaktion im Shiropugentest (viruskrank),
- = negative Reaktion im Shiropugentest (kein Virusnachweis).
- 3) Kontrolle infiziert
- 4) Kontrolle gesund

Tabelle 17: Ergebnisse der Warmwasserbehandlung von Reisern der Sorte "Hedelfinger", Virus: CRV

Proben- Nr.	Temp. °C	Beh.Dauer Minuten	Veredl. Stck.	angew.Veredl. Stck.	Sympt.	1. Test	2. Test
1	40	60	10	7	6+2 ¹⁾		
2	40	120	10	5	5+4		
3	40	180	10	6	4+3		
4	42	60	10	5	4+4		
5	42	120	10	7	5+3		
6	42	180	10	5	0+5		
7	44	10	10	8	6+2		
8	44	20	10	6	4+4		
9	44	30	10	7	7+0		
10	44	40	10	5	5+1		
11	44	50	10	5	5+3		
12	44	60	10	5	4+4		
13	46	10	10	6	3+3		
14	46	20	10	7	4+2		
15	46	30	10	4	2+1		
16	46	40	10	5	0+3		
17	48	10	10	4	1+1	4+ ²⁾	
18	48	20	10	5	0+0	3+5-	5+ ²⁾
19	48	30	10	2	0+0	2-	2+
20	50	10	10	3	0+0	3-	3+
21	50	20	10	1	0+0	1-	1+
22	52	10	10	1	0+0	1-	1+
23	52	20	10	0			
K.inf. ³⁾	-	-	10	8	7+2		
K.ges. ⁴⁾	-	-	10	8	0+0	8-	8-

- 1) 1. Zahl = Symptome an der angewachsenen Veredlung,
2. Zahl = Symptome an der Unterlage, Reis nicht angewachsen.
- 2) + = positive Reaktion im Shiropugentest (viruskrank),
- = negative Reaktion im Shiropugentest (kein Virusnachweis).
- 3) Kontrolle infiziert
- 4) Kontrolle gesund

Bis zu einer Behandlungstemperatur von 48°C erzielten wir befriedigende Anwachsergebnisse der Pfropfpartner, mindestens die Hälfte der Pfropfungen verwuchsen gut. Mit steigender Temperatur trat jedoch eine fortschreitende Schädigung der Reiser ein, totalschädigend waren Temperaturen über 54°C.

Einheitlich an beiden Sorten konnte bis zu 46°C keine Virushemmung im Sinne einer Inaktivierung festgestellt werden. Im Gegenteil, bei den 40, 42 und 44°C-Stufen kam es zu einer besseren Symptomausprägung an den Blättern als an den unbehandelten, viruskranken Kontrollen. Ab 48°C tritt eine deutliche Symptommaskierung ein, im ersten Shirofugentest erwiesen sich jedoch beim NRV noch alle Pflanzen der 48 und 50°C-Stufe als viruskrank. Erst ab 52°C konnten bei diesem Virus keine Nekrosereaktionen an Shirofugen festgestellt werden. Im zweiten, 6 Wochen später durchgeführten Test, erwiesen sich auch diese Pflanzen als NRV-krank. Von den isolierten und übergepfropften Triebspitzen erhielten wir keine virusfreien Exemplare.

Das CRV erwies sich als etwas hitzelabiler als das NRV, so konnte bereits in der 48°C-Stufe im ersten Shirofugentest an vielen Pflanzen das Virus nicht nachgewiesen werden. Im zweiten Shirofugentest dagegen mußten alle geprüften Pflanzen als CRV-krank diagnostiziert werden.

Durch eine Warmwasserbehandlung können die beiden untersuchten Viren demnach nicht inaktiviert werden. Wohl tritt ab 48°C eine Maskierung, ab 50 bis 52°C auch eine deutliche Beeinträchtigung der Viren ein, die Temperaturen erwiesen sich jedoch als nicht ausreichend für eine vollständige Inaktivierung. Für die beiden genannten Viren dürften erst Temperaturen zu einem Erfolg führen, die über der Schädigungsgrenze für Kirschenreiser liegen.

5. BEHANDLUNG VIRUSKRANKER STEINOBSTPFLANZEN IN EINER WÄRMKABINE (LANGZEITTHERAPIE)

5.1. Technische Einrichtung der Wärmekabine

Eine Gewächshauskabine von der Grundfläche 2 x 2 m wurde zu einer Wärmekabine für die Behandlung der Obstbäume umgebaut. Die Wände isolierten wir rundum mit Kunststoffplatten (Styropor 3 cm) ab. Hinter der Tür brachten wir einen Plastikvorhang an, um beim Öffnen der Tür zu große Wärmeverluste zu vermeiden. Die Pflanzen standen auf 80 cm hohen Tischen, die Töpfe wurden vollständig in Torfmull eingefüttert.

Die Beheizung der Kabine erfolgte mittels eines Heizlüfters mit einer Leistung von 2000 Watt. Die Temperaturregelung fand über ein in der Mitte des Raumes in Pflanzenhöhe hängendes Kontaktthermometer und ein außerhalb der Kabine angebrachtes Relais statt. Die Temperatur von 35 bis $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ wurde für die Mitte des Raumes eingestellt. In der vorderen rechten Ecke war ein Ventilator zur Luftumwälzung installiert. Sofern der Ventilator in Betrieb war, fand eine gute Luftdurchmischung in der gesamten Kabine statt. Wurde auf Luftdurchmischung verzichtet, so lag die Temperatur am oberen Topfrand etwa 3°C unter dem eingestellten Wert, im Topf konnten stets gleichbleibende Temperaturen um etwa 30°C gemessen werden. Nur die Triebe standen dann in der gewünschten Wärmezone.

Als Lichtquellen verwendeten wir über jedem Tisch eine Halterung, die mit 2 Osram-L-"Fluora"-Pflanzenstrahlern und einer Mischlichtlampe in der Mitte besetzt war. Osram-L-"Fluora" weist einen pflanzenphysiologisch günstigen Spektralbereich auf (SCHOSER, 1966). Die Lichtfarbe, die sich aus den Hauptstrahlungsbereichen im blauen und roten Gebiet ergibt, ist rötlich-purpur. Die Wärmestrahlung ist gering, so daß durch die Lampen ein Selbstaufheizen der Kabine über den gewünschten Bereich hinaus vermieden wird. Mit den installierten Lampen erzielten wir, sofern die Lichtquelle 50 cm über den Pflanzen hing, in den oberen Triebzonen 1800 bis 2000 Lux. Die installierte Leistung (JL) betrug 180 W/m^2 . Die Lampen hingen an Ketten über den Tischen und konn-

ten je nach Pflanzenhöhe verstellt werden. Es wurde darauf geachtet, daß sie stets 30 bis 50 cm über den Pflanzen hingen.

Die Luftfeuchtigkeit konnte in der Kabine nicht automatisch geregelt werden. Ihr kommt aber auch bei derartigen Versuchen keine allzu große Bedeutung zu. Aus der Literatur ist zu entnehmen, daß die günstigsten Werte zwischen 50 und 70 % rF liegen dürften. Derartige Werte erreichten wir mühelos, wenn wir den Boden der Kabine stets feucht hielten und die Töpfe in feuchtem Torfmull einfütterten.



Abb. 6: Blick in die beschickte Wärmekabine.

5.2. Der Einfluß der Temperatur auf die Mobilität der Viren

5.2.1. Transportgeschwindigkeit des NRV bei verschiedenen Temperaturen

Im Jahre 1969 wurde am Beispiel des NRV die Wanderungs- bzw. Ausbreitungsgeschwindigkeit im pflanzlichen System bei unterschiedlichen Temperaturen untersucht. Es galt zu prüfen, inwieweit die Virusausbreitung in der Pflanze durch die Temperatur beeinflusbar ist.

Als Versuchspflanzen dienten uns 2,50 m hohe, eintriebzig in Eimern gezogene Kirschensämlinge, die im Jahre zuvor auf Viren getestet worden waren und sich als virusfrei erwiesen hatten. Diese Pflanzen inokulierten wir am 15. 4. basal bzw. terminal mit 2 Rindenstücken NRV-kranker Pflanzen. Die Rindenstücke hatten eine Größe von etwa $1,5 - 2 \text{ cm}^2$. Die Inokulationsstellen wurden fest verbunden und mit Baumwachs verstrichen. Die Pflanzen stellten wir nach der Infektion in Gewächshauskabinen von 18 und 28°C , sowie in der Wärmekabine bei 38°C auf. Nach 3, 6, 9 und 12 Wochen entnahmen wir aus den verschiedenen Regionen in Abständen von 10 cm je 3 Rindenschildchen und prüften diese im Shirofugentest auf das NRV. Für jede Versuchsvariante standen drei Bäume zur Verfügung.

In den Abb. 7 und 8 sind die Ergebnisse dieses Versuches wiedergegeben. Die drei senkrechten Kastenreihen in der Darstellung repräsentieren die drei Versuchsbäume. Sofern ein Rindenschildchen aus der jeweiligen Baumregion eine positive Reaktion für das NRV im Shirofugentest zeigte, wurde die entsprechende schwarze Markierung eingesetzt.

Bei basaler Inokulation wurden folgende Ergebnisse erzielt: In der 18°C -Variante waren 3 Wochen p.i. etwa 40 - 50 cm des Stammes durchseucht, 6 Wochen p.i. 70 - 90 cm, 9 Wochen p.i. 110 - 130 cm und nach 12 Wochen 170-200 cm.

In der 28°C -Variante erfolgte die Ausbreitung etwas rascher. 3 Wochen p.i. waren es 70 cm, 6 Wochen p.i. 90 - 120 cm, 9 Wo-

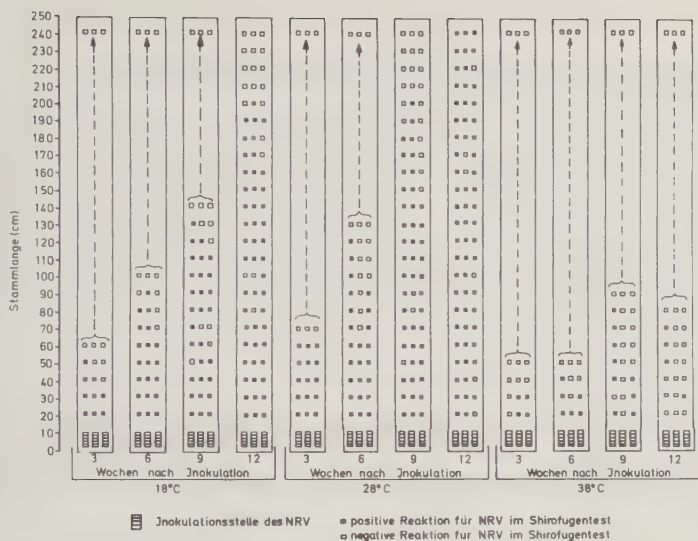


Abb. 7: Die Ausbreitungsgeschwindigkeit des NRV in jungen Kirschbäumen bei unterschiedlichen Temperaturen und bei basaler Inokulation.

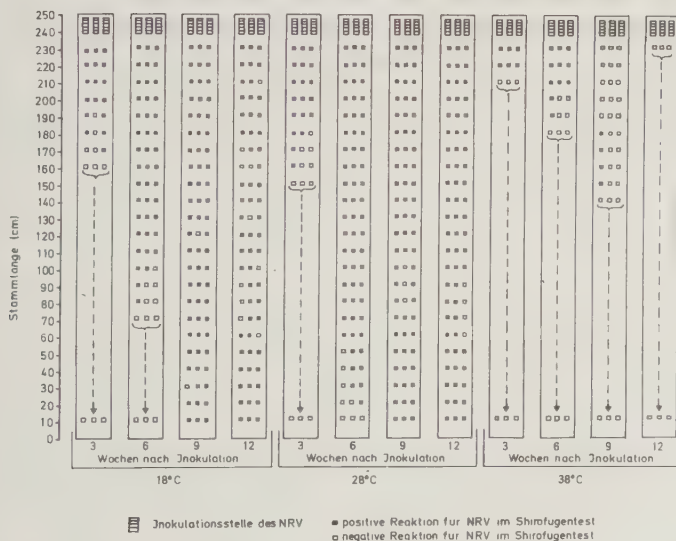


Abb. 8: Die Ausbreitungsgeschwindigkeit des NRV in jungen Kirschbäumen bei unterschiedlichen Temperaturen und bei terminaler Inokulation.

chen p.i. bis zu 200 cm. Nach 12 Wochen waren die Bäume bis zur Terminale vollständig durchseucht.

In der 38°C-Variante konnte eine deutliche Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit beobachtet werden. 6 Wochen p.i. konnte in Regionen über 40 cm kein Virus nachgewiesen werden, nach 9 Wochen nur in einem Baum bis zu 80 cm und 12 Wochen p.i. nur teilweise noch bis 70 cm.

Wesentlich anders stellt sich die Ausbreitung bei terminaler Inokulation dar:

In der 18°C-Variante waren 3 Wochen p.i. 70 - 80 cm, 6 Wochen p.i. 150 - 170 cm und 9 Wochen p.i. bereits die gesamte Stamm-länge von 250 cm vom Virus durchdrungen.

Auch bei terminaler Inokulation erfolgt in der 28°C-Variante eine raschere Ausbreitung als bei 18°C. Bereits 6 Wochen p.i. waren die Bäume nahezu vollständig durchdrungen.

Bei 38°C ist das Ausbreitungsvermögen sehr gering. 3 Wochen p.i. waren 30 cm, nach 6 Wochen 30 - 50 cm des Stammes infiziert. 9 Wochen p.i. konnte nur noch in einem Baum in der Region von 150 - 180 cm das Virus nachgewiesen werden, während nach 12 Wochen mit dem Shiropugentest kein Virusnachweis mehr möglich war. Dies muß allerdings nicht bedeuten, daß das Virus vollständig inaktiviert worden war. Es trat anscheinend nur eine teilweise Inaktivierung ein; die Viruskonzentration wurde so stark gesenkt, daß es im Shiropugentest zu keiner nekrotischen Abwehrreaktion mehr kam.

Nach dem Behandlungszeitraum von 12 Wochen stellten wir die Bäume wiederunter Normalbedingungen auf. Gerade an den Bäumen der 38°C-Variante, an denen nach 12wöchiger Behandlung kein Virusnachweis mehr gelang, konnten wir 10 Wochen nach Behandlungsende wieder die ersten Symptome beobachten.

5.2.2. Der Einfluß der Temperatur auf die Virusübertragung

Neben der Ausbreitungsgeschwindigkeit sollte in einem weiteren Versuch der Einfluß der Temperatur auf die Virusübertragung ermittelt werden.

In virusfreie Steinobstunterlagen setzten wir ein Rindenschildchen, das einer entsprechend kranken Pflanze entnommen wurde, ein und ermittelten die Kontaktzeit, die zur Virusübertragung notwendig war. Nach der Implantation des Inokulums stellten wir die Pflanzen unter normalen Gewächshausbedingungen (a) und in der Wärmekabine (b) bei 38°C auf. Die Rindenstücke entfernten wir nach 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 und 30 Tagen wieder von den Pflanzen. Nach Entfernen der Rindenstücke kamen auch die Pflanzen aus der Wärmekabine wieder unter normale Gewächshausbedingungen. Sofern die Pflanzen vier Monate nach Entfernen der Rindenschildchen keine typischen Virussymptome zeigten, wurden sie den verschiedenen Tests unterzogen und je nach Ergebnis als krank oder gesund klassifiziert.

In Tab. 18 werden die Ergebnisse wiedergegeben.

Das NRV wird unter Normalbedingungen sehr rasch übertragen; Kontaktzeiten von 2 Tagen (48 Stunden) sind schon ausreichend, um eine Infektion auszulösen. Unter den Bedingungen der Wärmekabine war dazu eine mindestens 5tägige Kontaktzeit erforderlich. Sehr ähnlich dem NRV verhält sich das CRV, wenngleich es etwas längere Kontaktzeiten benötigte.

Das RRV konnte unter normalen Bedingungen erst nach 5tägiger Kontaktzeit übertragen werden, während eine Übertragung bei 38°C sehr selten eintritt. Die hohen Infektionswerte, die nach einer 30tägigen Kontaktzeit ermittelt wurden, sind möglicherweise fehlerhaft, da nach 30 Tagen bereits eine intensive Verwachsung des Rindenstückes mit der Unterlage stattfand, und deshalb das Rindenstück herausgeschnitten werden mußte; Reste kranken Gewebes können dabei durchaus an der Pflanze verblieben sein und zu einer nachträglichen Infektion unter normalen Bedingungen geführt haben.

Tabelle 18: Der Einfluß der Temperatur auf die Virusübertragung.
Inokulation der Pflanzen durch Einsetzen von Rindenschildchen.

Kontaktzeit (Tage)	Virus							
	NRV		CRV		RRV		ToSRV	
	a) ¹⁾	b) ²⁾	a	b	a	b	a	b
1	0/10 ³⁾	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
2	4/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
3	6/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
4	8/10	0/10	4/10	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10
5	9/10	1/10	7/10	2/10	3/10	0/10	2/10	0/10
10	10/10	3/10	7/10	4/10	9/10	0/10	7/10	0/10
20	9/10	5/10	8/10	4/10	10/10	1/10	8/10	2/10
30	-	6/10	-	7/10	-	4/10	9/10	5/10

1) a = normale Gewächshausbedingungen (Tagestemperatur ca. 25°C, Nachttemperatur ca. 20°C)

2) b = Wärmekabine, 38°C

3) Zähler = Zahl der infizierten Pflanzen, Nenner = Zahl der geprüften Pflanzen

Das ToSRV benötigt unter normalen Bedingungen Kontaktzeiten von 4 bis 10 Tagen. Unter den Bedingungen der Wärmekabine waren nach 20 Tagen erst 2 von 10 Pflanzen infiziert.

Wie aus den Ergebnissen ersichtlich wird, haben Temperaturen von 38°C einen stark hemmenden Einfluß auf die Virusübertragung, wobei sich die einzelnen Viren voneinander abweichend verhalten.

5.3. Versuche zur Viruseliminierung

5.3.1. Wärmetoleranz der Steinobstpflanzen

1968 prüften wir 6 Sorten/Unterlagenkombinationen der Kirsche sowie den Pfirsichsämling auf ihre Wärmetoleranz. Es galt zunächst zu ermitteln, welche Zeiträume die Steinobstpflanzen bei einer Raumtemperatur von 38°C zu überstehen in der Lage waren. Aus der Literatur ist bekannt, daß Steinobstpflanzen gegenüber derartigen Temperaturen sensibler reagieren als Kernobstpflanzen. Die hohe Temperatursensibilität der Steinobstpflanzen veranlaßte uns, eine 20tägige Adaptationszeit der eigentlichen Wärmebehandlung vorzuschalten. Die Temperatur wurde, beginnend bei 30°C , während dieses Zeitraumes schrittweise auf 38°C erhöht. Nach etwa 10tägiger Adaptation werfen die Pflanzen die meisten Blätter ab, schon einige Tage später erfolgt jedoch ein Neuaustrieb der Knospen.

Die Ergebnisse in Abb. 9 zeigen die Wärmeverträglichkeit der verschiedenen Sorten Unterlagenkombinationen, wobei der Unterlage die größere Bedeutung zukommt.

Prunus avium F 12/I und Prunus avium Sämling verhalten sich ähnlich. Eine über 30 Tage hinausgehende Behandlungszeit bei 38°C ist mit größeren Ausfällen verbunden. Nach etwa 45 Tagen waren über 50 % der Pflanzen abgestorben. Hinsichtlich der Wärmetoleranz erwies sich Prunus mahaleb als geeignetste Unterlage für eine Wärmebehandlung. Selbst 70 Tage nach Behandlungsbeginn waren weniger als 40 % der Pflanzen abgestorben. Des weiteren kann bei

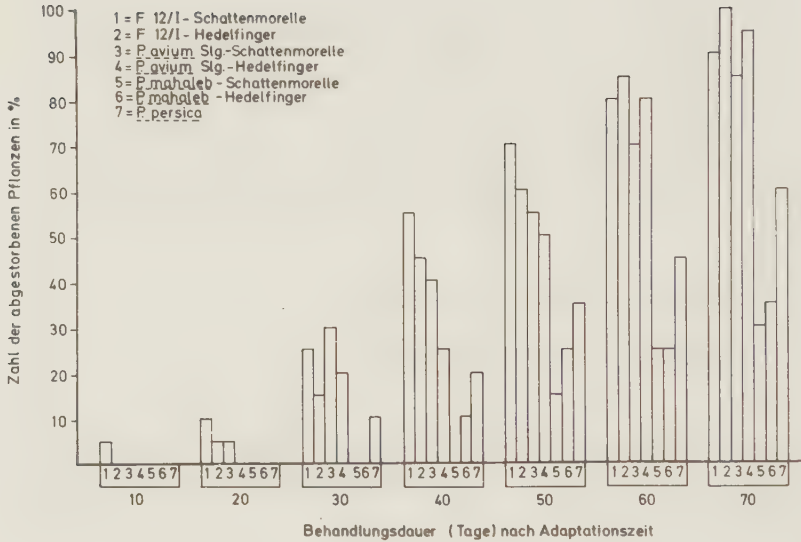


Abb. 9: Die Wärmetoleranz verschiedener Sorten/Unterlagen-Kombinationen der Kirsche und die des Pfirsichsämlings. Raumtemperatur: 38°C, Adaptationszeit 20 Tage.

Prunus mahaleb die Adaptationszeit auf 10 Tage verkürzt werden, ohne daß die Pflanzen größeren Schaden erleiden. Bei den übrigen Kirschenkombinationen, aber auch beim Pfirsichsämling, bewirkte eine Verkürzung der Adaptationszeit schockartige Hitzeschäden.

Es ist ein besonderes Kennzeichen für die Hitzeschäden, daß die gefropften Pflanzen während der Behandlung nicht vom Edelreis her abstarben; die Schädigungen beginnen vielmehr an der Wurzelhalszone und setzen sich dann nach oben fort. Derartige Hitzeschäden an den unteren Stammpartien waren bei Prunus mahaleb nur selten zu beobachten.

5.3.2. Der Einfluß verschiedener Faktoren auf den Wuchsverlauf der Bäume

Die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung ist entscheidend für die Erzielung virusfreier Pflanzenteile. Wir bemühten uns deshalb, diese erwünschte Neutriebbildung zu fördern. Verschiedene biotische und abiotische Faktoren wirken fördernd oder hemmend auf das Wachstum der Pflanzen ein. In den nachfolgenden Ausführungen soll über sie berichtet werden. Bei den Darstellungen der Wuchsverläufe bzw. der Neutriebbildung während der Wärmebehandlung wurden jeweils die Mittelwerte von 15 Einzelpflanzen zugrunde gelegt. Die Pflanzen wurden in 10tägigen Abständen gemessen.

Der günstigste Zeitpunkt für eine Wärmebehandlung der Kirsche und des Pfirsichs liegt nach unseren Untersuchungen etwa Anfang Juli. Gerade die Kirsche schließt sehr frühzeitig, etwa Mitte Juli, unter Freilandbedingungen mit dem Triebwachstum ab. Zu diesem Zeitpunkt sind die diesjährigen Triebe bereits voll verholzt, und die Rinde hat sich gebräunt. Auch die Knospen, die dann während der Wärmebehandlung austreiben sollen, sind zu diesem Zeitpunkt gut entwickelt.

5.3.2.1. Der Einfluß des Rückschnittes

Ein Rückschnitt der diesjährig gebildeten Triebe an zu behandelnden Pflanzen hat einen starken Einfluß auf die Neutriebbildung (Abb. 10).

Als Versuchspflanzen wählten wir die Sorten "Schattenmorelle" und "Hedelfinger", Stammlänge etwa 30 cm, Unterlage Prunus avium F 12/I, die mit dem NRV infiziert waren. Jede Pflanze war mit drei etwa 50 bis 70 cm langen Trieben besetzt, die bei der ersten Variante nicht zurückgeschnitten, bei der zweiten Variante auf die Hälfte gekürzt und bei der dritten Variante auf 2 Knospen zurückgeschnitten wurden.

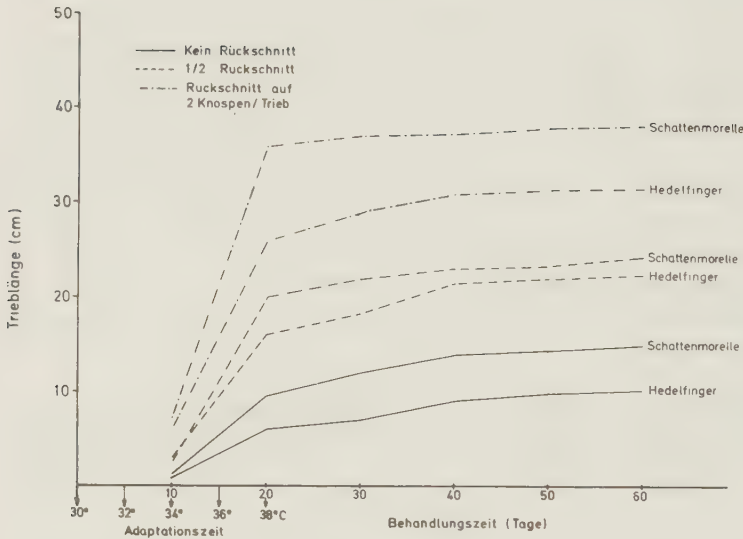


Abb. 10: Der Einfluß des Rückschnittes auf die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung.
Unterlage: *Prunus avium* F 12/I, Sorten: "Schattenmorelle", "Hedelfinger", Virus: NRV.

Der stärkste Neuaustrieb war während der ersten 20 Behandlungstage, der Adaptationszeit, zu beobachten. Ein starker Rückschnitt förderte die Neutriebbildung, während die Pflanzen ohne Rückschnitt einen sehr geringen und verzögerten Neuaustrieb entwickelten. Die Sorte "Schattenmorelle" war in der Triebbildung der Sorte "Hedelfinger" leicht überlegen. Aus der Abbildung ist auch zu ersehen, daß die Triebbildung bzw. der Zuwachs bei Temperaturen von 38°C nur noch minimal ist.

Bei Rückschnitt auf 2 Knospen je Trieb kam es zu einem Austrieb aller verbliebenen Knospen, wobei jedoch im Laufe der Behandlungszeit eine gewisse Dominanz der oberen Knospe zu beobachten war. Der neugebildete Trieb aus der oberen Knospe war stets länger als der aus der darunter sitzenden, was mit der Apikaldominanz der Obstbäume erklärt werden kann.

5.3.2.2. Unterlagen- und Sorteneinflüsse

Unterlage und Sorte üben einen nicht unwesentlichen Einfluß auf die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung aus. Wir prüften Pflanzen mit den Unterlagen Prunus avium Slg., Prunus avium F 12/I und Prunus mahaleb, gepfropft mit den Sorten "Schattenmorelle" und "Hedelfinger", die mit dem NRV infiziert waren. Die Stammlänge betrug im Durchschnitt 30 cm, der Rückschnitt erfolgte auf 2 Knospen je Trieb.

In der Abb. 11 werden die Ergebnisse dargestellt.

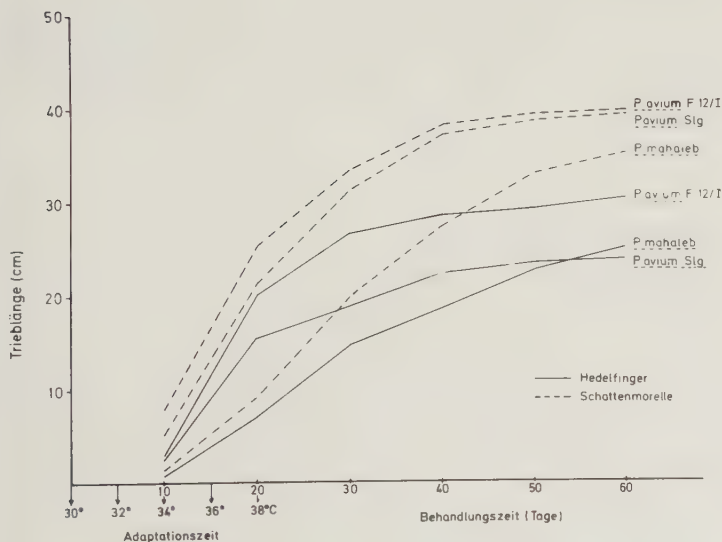


Abb. 11: Die Neutriebbildung verschiedener Sorten/Unterlagen-Kombinationen der Kirsche während der Wärmebehandlung.

Prunus avium Slg. und Prunus avium F 12/I haben einen starken Einfluß auf die Triebleistung während der ersten 20 Tage der Adaptationszeit, während Prunus mahaleb einen zu Beginn verzögern-

den

Einfluß erkennen läßt. Im 38°C -Bereich kann allerdings bei Prunus mahaleb noch ein deutlicher Zuwachs verzeichnet werden, so daß die Triebblängen nach 60tägiger Behandlung sehr nahe an die der beiden erstgenannten Unterlagen herankommen. Die schon erwähnte größere Wärmetoleranz von Prunus mahaleb scheint der Grund für dieses Verhalten zu sein.

Auch die Sortenunterschiede waren auf den verschiedenen Unterlagen deutlich ausgeprägt. Während an Schattenmorelle durchschnittliche Gesamtrieblängen von etwa 40 cm gemessen wurden, lagen diese bei "Hedelfinger" bei etwa 25 cm.

5.3.2.3. Der Einfluß der Virusinfektion

Ähnlich wie schon bei den in Abb. 2 dargestellten Wuchsverläufen unter natürlichen Verhältnissen, verhalten sich die virusinfizierten Pflanzen auch während der Wärmebehandlung (Abb. 12).

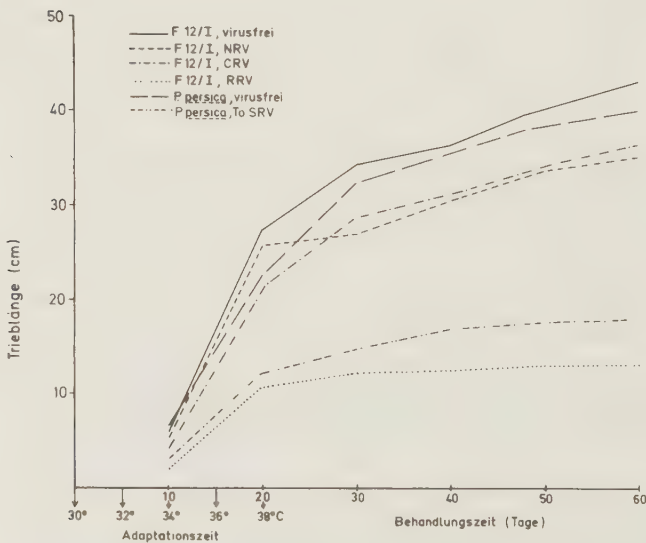


Abb. 12: Der Einfluß der Infektion mit verschiedenen Steinobst-viren auf die Neutriebbildung von Prunus avium F 12/I und Prunus persica Slg. während der Wärmebehandlung. Rückschnitt der Pflanzen auf 2 Knospen/Trieb.

NRV- und CRV-krankte Bäume entwickelten Gesamttrieblängen von etwa 30 cm, während RRV- und ToSRV-krankte Bäume nur einen sehr geringen Neutrieb von etwa 15 cm in dem 60tägigen Behandlungszeitraum bildeten.

5.3.2.4. Der Einfluß der Stammlänge

Abb. 13 zeigt den Einfluß der Stammlänge auf die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung. Schon zu Beginn unserer Untersuchungen war uns aufgefallen, daß an Pflanzen mit langen Stämmen sehr viel geringere Triebblängen gemessen wurden als an solchen mit kurzem Stamm. Wir prüften deshalb den Einfluß der Stammlänge, indem wir Versuchspflanzen mit Stammlängen von 15, 30, 45, 60 und 75 cm einer 60tägigen Wärmebehandlung unterzogen.

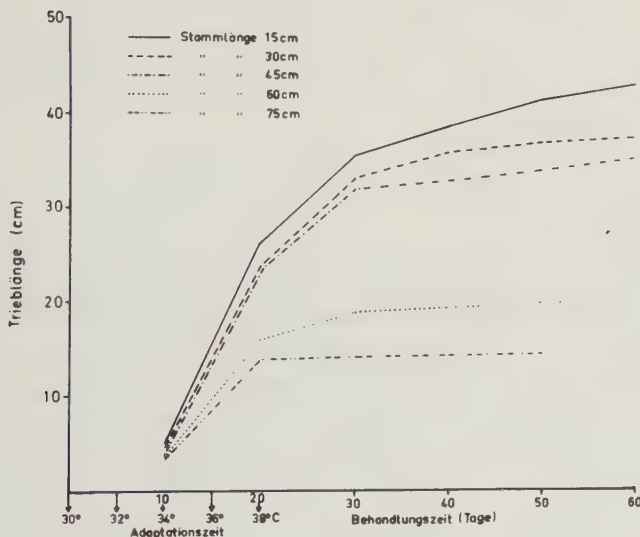


Abb. 13: Der Einfluß der Stammlänge auf die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung.
Unterlage: *Prunus avium* F 12/I, Sorte: "Schattenmorelle",
Virus: NRV, Rückschnitt: 2 Knospen/Trieb.

Die Messungen lassen den Schluß zu, daß an Bäumen mit kurzem Stamm längere Triebe wachsen, und diese deshalb für eine Therapie besser geeignet sind als solche mit Stammlängen über 50 cm. Anscheinend sind bei Temperaturen von 38°C die Transportvorgänge in der Pflanze sehr stark gehemmt oder gar gestört; lange Stämme verstärken diesen Effekt noch wesentlich. Neben den geringeren Triebleistungen kommt noch hinzu, daß Pflanzen mit langen Stämmen auch wesentlich schneller absterben. Um ein rasches Wachstum während der Wärmebehandlung zu erreichen, sollte die Pfropfung der Unterlage dicht über dem Wurzelhals vorgenommen werden.

5.3.2.5. Der Einfluß von Phytohormonen

Aus Abb. 12 konnte entnommen werden, daß die Neutriebbildung während der Wärmebehandlung von den einzelnen Viren stark gehemmt wird. Dies trifft besonders für das RRV und das ToSRV zu, die unter diesen extremen Bedingungen nur einen sehr geringen Zuwachs gestatten. Es war aus diesen Gründen naheliegend, das Wachstum der Pflanzen mit Hilfe applizierter Phytohormone anzuregen und zu steigern.

1968 prüften wir den Einfluß von drei Phytohormonen auf das Triebwachstum. Wir verwendeten aus der Gruppe der Auxine die β -Indolylessigsäure (IES), aus der Gruppe der Phytokinine das 6-Furfurylaminopurin (Kinetin) und aus der Gruppe der Gibberelline die Gibberellinsäure GA 3. Zunächst prüften wir diese drei Substanzen auf den Wuchsverlauf NRV-infizierter Kirschenpfropfungen in den Konzentrationen 50 und 100 ppm. Die Substanzen waren in Wasser (GA 3) bzw. in 4 %igem Alkohol (IES, Kinetin) gelöst, die Applikation erfolgte über das Blatt. 4 Applikationen in 5tägigen Abständen während der Adaptationszeit wurden ausgebracht. Mit einem Zerstäuber wurden die Blätter tropfnaß eingesprüht.

In der Abb. 14 sind die Wuchsverläufe der mit Phytohormonen behandelten Bäume dargestellt. Während Kinetin, besonders aber

IES, einen hemmenden Einfluß auf die Triebleistung erkennen lassen, hatte GA 3 einen stark fördernden Effekt auf den Triebzuwachs. So konnte mit einer Konzentration von 100 ppm GA 3 der Austrieb der Schattenmorelle um über das Doppelte gegenüber der unbehandelten Kontrolle gesteigert werden.

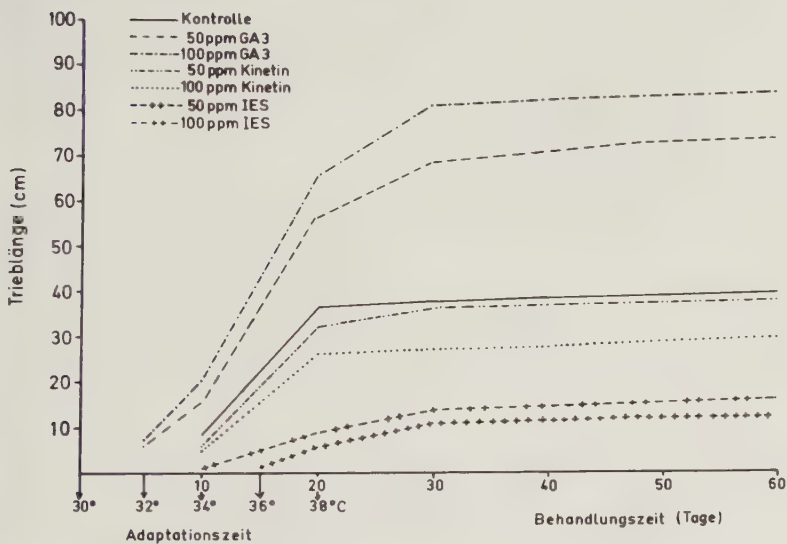


Abb. 14: Der Einfluß verschiedener Phytohormone auf die Neutriebbildung NRV-kranker Kirschenbäumchen während der Wärmebehandlung.
Unterlage: *Prunus avium* F 12/I, Sorte: "Schattenmorelle",
Rückschnitt: 2 Knospen/Trieb.

GA 3 bewirkt einen früheren Austriebsbeginn der nach dem Rückschnitt verbliebenen Knospen. Schon 2 - 3 Tage nach der ersten Applikation beginnen die Knospen durchzutreiben, während bei unbehandelten Bäumen erst nach 6 - 10 Tagen ein Durchtrieb erfolgt. Gerade während der Adaptationszeit wird der Austrieb durch GA 3 stark gefördert. Aber auch im 38°C-Bereich ist zumindest in der ersten Behandlungsperiode (bis zu 30 Tagen) noch

ein züliges Wachstum zu beobachten, zu einem gewissen Stillstand kommt es erst in der zweiten Behandlungsperiode.

In Abb. 15 sind die Wachstumskurven der Bäume, die mit den vier untersuchten Viren infiziert waren, mit und ohne GA 3-Behandlung dargestellt.

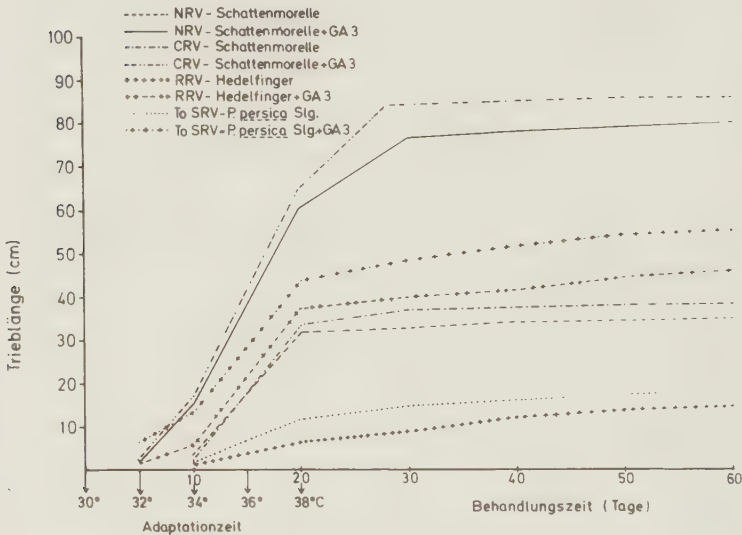


Abb. 15: Der Einfluß der Gibberellinsäure (GA 3) auf die Neutriebbildung viruskranker Steinobst-Bäumchen während der Wärmebehandlung.
Konzentration: 100 ppm GA 3, Unterlagen: Prunus avium F 12/I, Prunus persica Slg., Rückschnitt: 2 Knospen/Trieb.

Die Kurvenverläufe lassen erkennen, in welchem starkem Maße die Austriebslängen durch GA 3 gefördert werden. Während NRV- und CRV-krankte Bäume auch ohne Gibberellinbehandlung befriedigende Neutriebe bilden, die für eine Weiterkultur als Triebspitzen oder Stecklinge geerntet werden können, ist diese Neigung bei

RRV- und ToSRV-kranken Bäumen, die ja gerade das vegetative Wachstum stark einschränken und zu Rosettenwuchs führen, sehr gering, so daß kaum verwertbare Triebe entnommen werden können. Aus der Abbildung wird ersichtlich, wie stark gerade bei diesen Viruserkrankungen die Gibberellinsäure wachstumsfördernd wirkt.

Weiterhin galt es, die günstigsten Applikationskonzentrationen zu ermitteln. In einem weiteren Versuch (Abb. 16) prüften wir die Konzentrationsstufen 50, 100 und 200 ppm an drei Kultursorten der Kirsche, die Bäume waren mit dem NRV infiziert.

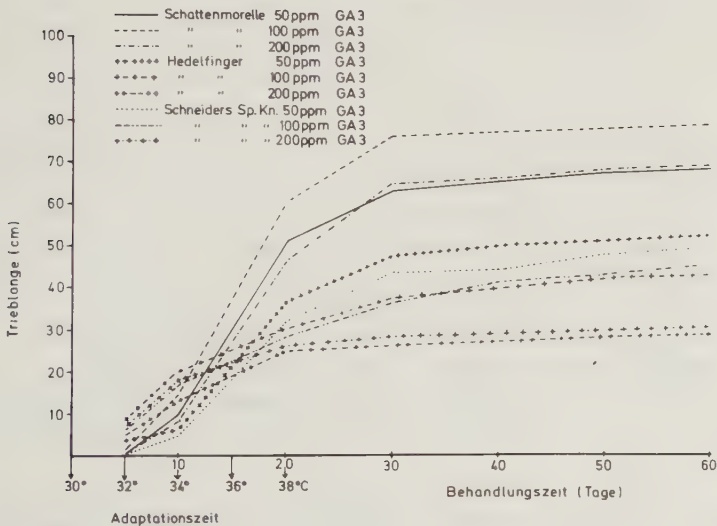


Abb. 16: Der Einfluß der Gibberellinsäure (GA 3)-Konzentration auf die Neutriebbildung verschiedener Kirschensorten während der Wärmebehandlung.
Virus: NRV, Unterlage: *Prunus avium* F 12/I,
Rückschnitt: 2 Knospen/Trieb.

Für "Schattenmorelle" ermittelten wir die Konzentration von 100 ppm als die mit dem stärksten Einfluß auf das Triebwachstum.

Für die beiden Süßkirschensorten erwiesen sich 50 ppm GA 3 als die günstigste Konzentration. Die beiden höheren Konzentrationen (100 und 200 ppm) bewirkten zwar einen etwas rascheren Austrieb bei Behandlungsbeginn, erwiesen sich jedoch später gegenüber der erstgenannten als weniger wachstumsfördernd.

In den bisher dargestellten Abbildungen waren die Gesamtrieblängen eines Baumes im Durchschnitt von 15 Einzelbäumen dargestellt, d. h. die Zusammenfassung aller Einzeltrieblängen, die sich während der Behandlungszeit gebildet hatten.

Die applizierte GA 3 wirkte nach unseren Beobachtungen in zwei Richtungen: Sie förderte zum einen die Einzeltrieblänge, zum anderen wirkt sie der Apikaldominanz entgegen. An einem Baum ohne Gibberellinbehandlung treibt nach dem Rückschnitt auf 2 Knospen nur die obere stärker aus, während die darunter liegende durch die Apikaldominanz stark gehemmt wird; nach geringfügigem Austrieb stellt sie ihr Wachstum völlig ein. Der Einfluß der Gibberellinsäure besteht aber auch darin, diese Apikaldominanz weitgehend auszuschalten, alle sich an den Trieben befindenden Knospen treiben gleichmäßig und etwa gleichlang aus, wie dies aus Abb. 17 ersichtlich wird.

Dabei haben wir den Neuaustrieb eines Triebes, der auf drei Knospen zurückgeschnitten worden war, dargestellt, wobei 1 die obere, 2 und 3 die darunter befindlichen Knospen kennzeichnen. Die Darstellung repräsentiert den Mittelwert von 15 Einzeltriebmessungen.

Die mit GA 3 behandelten Bäume entwickeln etwa gleichlange Triebe von 30 cm, während bei den unbehandelten Pflanzen nur die oberste Knospe einen befriedigenden Trieb bildet, die darunter befindlichen Knospen treiben nur sehr verzögert und kurztriebig aus.

In den Säulen der Abb. 17 sind auch noch die Internodienlängen der einzelnen Neuaustriebe eingezeichnet. Sie lassen erkennen, daß an GA 3 behandelten Pflanzen nicht nur längere Internodien auftreten, sondern daß auch mehr Nodien gebildet werden. Gerade

nach dem 20. Behandlungstag, wenn also die Adaptationszeit vorüber und die Endtemperatur von 38°C erreicht war, kam es noch zu einem Triebzuwachs, wenngleich durch die hohen Temperaturen das Streckungswachstum eingeschränkt wurde. Die dichte Nodienfolge im oberen Sproßabschnitt GA 3-behandelter Pflanzen läßt erkennen, daß noch hohe Wuchsaktivitäten vorlagen.

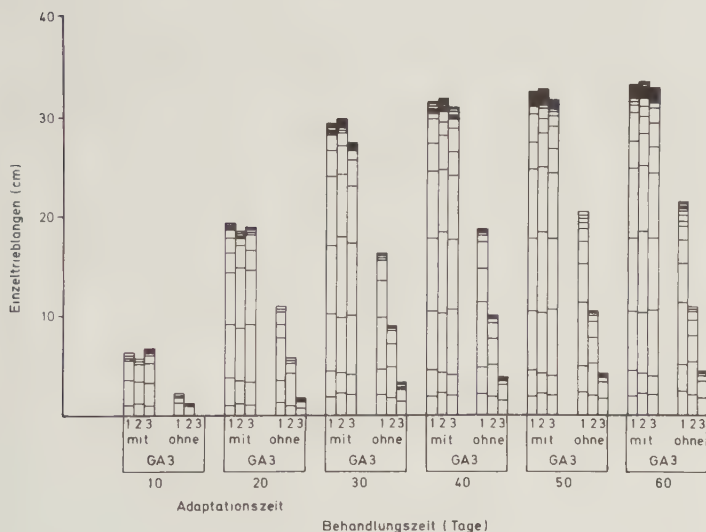


Abb. 17: Der Einfluß der Gibberellinsäure (GA 3) auf die Austriebs- und Internodienlängen während der Wärmebehandlung.
 Rückschnitt: 3 Knospen/Trieb (1,2,3 v.o.n.u.),
 Sorte: "Schattenmorelle", Unterlage: *Prunus avium*
 F 12/I, Konzentration: 50 ppm GA 3, Mittelwerte von je 15 Bäumen.

5.3.3. Gewinnung virusfreier Sproßteile nach einer Wärmebehandlung (Langzeittherapie)

Unsere Untersuchungen zur Thermotherapie viruskranker Steinobstpflanzen haben ergeben, daß es in keinem Falle gelang, eine Pflanze in ihrer Gesamtheit mit Sproß- und Wurzelsystem virusfrei zu erhalten. Selbst nach einer 80tägigen Wärmebehandlung bei 38°C zeigten sich bereits wenige Wochen nach deren Beendigung wieder die typischen Virussympptome. NRV- und CRV-Symptome konnten bereits 4 Wochen nach Behandlungsende an den Neuaustrieben beobachtet werden, während RRV- und ToSRV-krankte Pflanzen bis zu 12 Wochen nach der Wärmebehandlung symptomlos blieben, dann aber wieder die typischen Kennzeichen der Krankheit aufwiesen. Eine Heilung kompletter Pflanzen ist bisher nur an krautigen Pflanzen und lediglich in ganz seltenen Fällen an Gehölzen gelungen. Für die Mehrzahl der Virosen der Obstgehölze scheint dies nicht möglich zu sein. Angesichts dieser Situation waren die Bemühungen darauf konzentriert, wenigstens gewisse Teile der Pflanzen, wie Knospen, Stecklinge oder Triebspitzen virusfrei zu erhalten.

5.3.3.1. Isolation von Knospen

Von wärmebehandelten Pflanzen isolierten wir nach 20, 40, 60 und 80 Tagen Knospen (Augen) sowohl von Trieben, die bereits vor der Behandlung gebildet worden waren, als auch von Trieben, die sich erst während der Wärmebehandlung in der Kabine gebildet hatten, und okultierten diese auf virusfreie Prunus avium F 12/1-Unterlagen. In Tab. 19 sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

Aus dem Altholz konnten selbst nach 80tägiger Wärmebehandlung keine virusfreien Knospen gewonnen werden, dies gilt für alle drei untersuchten Viren. Auch die isolierten Knospen an neugebildeten Trieben waren zum größten Teil noch krank, nur beim NRV und CRV gelang es in vereinzeltten Fällen, gesunde Knospen zu isolieren. Die größte Schwierigkeit liegt darin, daß die Knospen an den neugebildeten Trieben sehr schlecht ausgebildet

Tabelle 19: Möglichkeiten zur Gewinnung virusfreier Pflanzen durch die Okulation von Knospen nach einer Wärmebehandlung.

Wärme- behand- lung (Tage)	Knospen- position ¹⁾	NRV		CRV		RRV	
		Okula- tionen	ange- wachsen	Okula- tionen	ange- wachsen	Okula- tionen	ange- wachsen
			frei		frei		frei
20	A	20	13	17	14	12	6
20	B	-	-	-	-	-	-
40	A	16	11	19	13	14	9
40	B	18	8	17	10	20	7
60	A	14	9	16	11	18	10
60	B	20	7	17	6	16	4
80	A	16	11	14	8	12	6
80	B	18	6	19	7	16	5

1) A = Knospe vom Altholz isoliert, B = Knospe von neugebildeten Trieben isoliert.

2) Virusfreiheit nach 6 Biotests in zwei Jahren nachgewiesen.

und differenziert sind, so daß nur sehr wenige von ihnen auf den okulierten Unterlagen anwachsen. Gerade die Knospen an den oberen Triebabschnitten, die die größte Aussicht auf Virusfreiheit bieten würden, wachsen auf den Unterlagen wegen ihrer mangelhaften Ausbildung nur in den seltensten Fällen an.

5.3.3.2. Bewurzelung von Stecklingen

Die Bewurzelung von Stecklingen unter einer Sprühnebelanlage stellt eine weitere Möglichkeit zur Erzielung virusfreier Pflanzen dar. 3 bis 6 cm lange Stecklinge ernteten wir nach 20, 40, 60 und 80tägiger Wärmebehandlung von den kranken Bäumen. Vor dem Stecken erfolgte eine Wuchsstoffbehandlung der Schnittstelle mit 2000 ppm IBS (vgl. Abschnitt 3.3.). Die Stecklinge entnahmen wir neugebildeten Trieben, wobei wir diese je nach ihrer Wuchslänge in solche von 5-10 cm, 10-20 cm und größer als 20 cm einteilten. Die Ergebnisse können der Tab. 20 entnommen werden.

NRV

Nach 20tägiger Behandlungszeit konnten keine virusfreien Stecklinge gewonnen werden, die ersten Exemplare erhielten wir nach 40 Tagen, wobei sich die Stecklinge, die Langtrieben entnommen worden waren, häufiger als virusfrei erwiesen. Nach 60tägiger Behandlungszeit war der Anteil virusfreier Stecklinge am höchsten. Deutliche Unterschiede bezüglich der Trieblänge wurden erkennbar. Während bei den Kurztrieben sich nur ein Steckling von 6 als virusfrei erwies, waren es bei den von Langtrieben entnommenen 9 von 13 (69 %) und bei den von mittellangen Trieben entnommenen 4 von 11 (36 %). Überraschend ist das Ergebnis nach 80tägiger Behandlungszeit. Der Anteil virusfreier Exemplare ist nach diesem Behandlungszeitraum rückläufig, nur noch 2 von 7 bei mittlerer Trieblänge bzw. 3 von 7 bei Langtrieben konnten virusfrei gewonnen werden.

CRV

Dem NRV sehr ähnlich verhielten sich Stecklinge, die CRV-kranken

Tabelle 20: Möglichkeiten zur Gewinnung virusfreier Pflanzen durch autovegetative Vermehrung von Stecklingen nach einer Wärmebehandlung.
Stecklingslänge: 3-6 cm, Wuchsstoffbehandlung: 2000 ppm β -Indolylbuttersäure

Wärme- behand- lung (Tage)	Trieb- länge (cm)	NRV			CRV			RRV			ToSRV		
		Schattenmorelle ge- steckt wur- zelt	be- virus- frei	1)	Schattenmorelle ge- steckt wur- zelt	be- virus- frei	1)	Hedelfinger ge- steckt wur- zelt	be- virus- frei	1)	P. persica ge- steckt wur- zelt	be- virus- frei	2)
20	< 10	16	7	0	9	4	0	13	6	0	17	6	0
	10-20	20	12	0	11	6	0	-	-	-	8	3	0
	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	< 10	13	8	1	22	10	0	17	9	0	15	7	0
	10-20	18	12	3	19	7	4	19	11	0	21	9	0
	> 20	17	13	5	21	12	7	15	6	1	19	10	2
60	< 10	12	6	1	18	9	3	22	10	0	20	8	0
	10-20	21	11	4	20	11	6	27	14	2	23	12	1
	> 20	25	13	9	16	7	7	18	9	2	21	10	4
80	< 10	17	9	0	12	6	1	7	4	0	14	4	1
	10-20	15	7	2	14	9	0	11	5	0	19	6	4
	> 20	12	7	3	16	7	3	9	4	1	24	7	7

1) Virusfreiheit nach 6 Biotests in zwei Jahren nachgewiesen

2) Virusfreiheit nach 5 Biotests in zwei Jahren nachgewiesen

Bäumen entnommen wurden. Auch hier konnte nach 20tägiger Behandlung kein gesunder Steckling gewonnen werden. Gute Ergebnisse erbrachte bereits eine 40tägige Behandlungszeit dann, wenn die Stecklinge Langtrieben entnommen wurden (58 % virusfrei). Auch bei diesem Virus erwiesen sich 60 Tage als günstigste Behandlungszeit, von mittellangen Trieben waren 6 von 11 Stecklingen virusfrei (55 %); die von Langtrieben geernteten Stecklinge waren alle virusfrei (100 %). Wiederum konnten nach 80tägiger Behandlung rückläufige Ergebnisse festgestellt werden.

RRV

Das RRV ist ein schwer zu eliminierendes Virus, und die Stecklingsmethode stellte sich in unseren Untersuchungen als nur bedingt brauchbar heraus. Nach 60tägiger Behandlungszeit konnten nur 2 von 14 bei mittlerer Trieblänge und 2 von 9 an Langtrieben virusfrei gewonnen werden. Auch durch einen noch längeren Behandlungszeitraum konnten keine besseren Ergebnisse erzielt werden.

ToSRV

Bei dem ToSRV des Pfirsichs ist es möglich, nach mindestens 60tägiger Behandlung virusfreie Stecklinge zu gewinnen. Dieses Virus weicht von den drei zuvorgenannten dahingehend ab, daß längere Behandlungszeiten notwendig sind, um es aus den neugebildeten Trieben zu eliminieren. Selbst nach 60tägiger Behandlungszeit konnten wir nur eine sehr kleine Zahl virusfreier Exemplare erhalten. Da der Pfirsichsämling eine sehr wärmeterolerante Pflanze ist - er könnte theoretisch über 100 Tage bei Temperaturen von 38°C stehen ohne einzugehen - konnten wir auch nach 80 Tagen noch genügend Stecklinge ernten, obwohl die Pfirsichstecklinge eine geringere Bewurzelungsneigung als Kirschen haben. Nach 80tägiger Behandlung war der Anteil der virusfreien Stecklinge sehr hoch, besonders die von Langtrieben geernteten waren zu 100 % virusfrei. Auch bei diesem Virus hatte die Trieblänge einen überaus großen Einfluß.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß NRV, CRV und ToSRV leicht zu eliminierende Viren sind. Mit der Stecklingsmethode konnten gute Ergebnisse erzielt werden, sofern die Pflanzen während des Behandlungszeitraumes eine gute Neutriebbildung zeigten. Auch die Behandlungszeit ist ein wesentliches Kriterium für die Gewinnung virusfreier Stecklinge. Ein schwer zu eliminierendes Virus ist das RRV. Mit der Stecklingsmethode konnten bei diesem Virus nur wenige Exemplare gesund gewonnen werden.

5.3.3.3. Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung)

Die Pfropfung unverholzter, im Wachstum befindlicher Triebspitzen (tips) auf gesunde Unterlagen, ist eine weitere Möglichkeit zur Weitervermehrung virusfreier Sproßteile. Die Triebspitzen waren etwa 1-2 cm lang. Die Methode der Grünpfropfung erwies sich in den Untersuchungen als besonders erfolgreich. Bei allen vier untersuchten Viren erzielten wir sehr gute Ergebnisse (Tab. 21).

NRV und CRV

Bereits nach 40tägiger Behandlung konnten die ersten virusfreien Triebspitzen erfolgreich übergepfropft werden. Optimale Ergebnisse erzielten wir nach 60tägiger Behandlung. Sowohl Triebspitzen von kurzen, als auch mittleren und langen Trieben waren weitgehend NRV- und CRV-frei. Behandlungslängen über 60 Tage hinaus erwiesen sich als ungünstig.

RRV

Mit der Methode der Triebspitzenpfropfung konnten wir das RRV aus der Sorte "Hedelfinger" erfolgreich eliminieren. Ein 60tägiger Behandlungszeitraum erwies sich auch bei diesem Virus als am geeignetsten. Da das RRV schwerer als die beiden erstgenannten zu eliminieren ist, erzielten wir die höchsten positiven Ergebnisse bei Entnahme der Triebspitzen von Langtrieben. Behandlungszeiten über 60 Tage hinaus verminderten den Anteil virusfreier Exemplare.

Tabelle 21: Möglichkeiten zur Gewinnung virusfreier Pflanzen durch Grünpfropfung von Triebspitzen (tips) nach einer Wärmebehandlung.

Wärme- behand- lung (Tage)	Trieb- länge (cm)	NRV			CRV			RRV			ToSRV		
		Schattenmorelle ge- pfropft	ange- wach- sen	frei	Schattenmorelle ge- pfropft	ange- wach- sen	frei	Hedelfinger ge- pfropft	ange- wach- sen	frei	P.persica ge- pfropft	ange- wach- sen	frei
20	< 10	9	2	0	7	3	0	-	-	-	-	-	-
	10-20	12	2	0	8	4	0	-	-	-	-	-	-
	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	< 10	17	4	2	9	5	0	4	2	0	9	3	0
	10-20	12	4	2	14	8	2	7	4	0	12	5	1
	> 20	19	6	3	17	12	5	12	5	1	14	9	1
60	< 10	18	6	4	12	7	4	16	6	1	12	5	1
	10-20	13	8	6	19	10	7	18	9	4	16	5	3
	> 20	20	12	10	20	9	7	22	8	6	20	9	5
80	< 10	9	4	0	7	2	0	13	6	1	7	4	2
	10-20	12	5	2	9	6	1	11	8	2	9	4	3
	> 20	14	4	1	13	6	3	16	10	5	13	6	6

1) Virusfreiheit nach 6 Biotests in zwei Jahren nachgewiesen

2) Virusfreiheit nach 5 Biotests in zwei Jahren nachgewiesen

ToSRV

Schon in den Versuchen mit der Stecklingskultur war aufgefallen, daß das ToSRV zu seiner Eliminierung längere Zeiträume als die übrigen untersuchten Steinobstviren benötigt. Diese Tendenz bestätigte sich auch bei Anwendung der Triebspitzenpfropfung. So konnte zwar nach 60tägiger Behandlung eine größere Zahl virusfreier Triebspitzen gewonnen werden, noch günstigere Ergebnisse erhielten wir aber nach einer 80tägigen Behandlung. Alle 6 der von Langtrieben geernteten und angewachsenen Triebspitzen waren virusfrei.

Inwieweit das Virus, die Sorte und die Gibberellinsäure einen Einfluß auf Virusfreiheit und Verwachsen der gepfropften Triebspitzen haben können, soll am Beispiel des NRV erläutert werden (Tab. 22).

Betrachtet man zunächst die Werte der Sorte "Schattenmorelle", so kann festgestellt werden, daß Triebspitzen, die gesunden Pflanzen entnommen worden waren, zu einem sehr großen Teil (80 %) anwuchsen, während Triebspitzen von NRV-kranken Pflanzen, die keiner Wärmebehandlung unterzogen worden waren, nur minimale Anwachsergebnisse zeigten (10 %). Wie schon bei der Beschreibung der einzelnen Viren erwähnt, kann die nekrotische Schockreaktion, die das NRV an der gesunden Unterlage auslöst, dafür verantwortlich gemacht werden. Obwohl die kranken Triebspitzen nicht anwuchsen, waren sie durch den einige Tage (bis zu ihrem Absterben) währenden Kontakt in der Lage, die Unterlagen in den meisten Fällen zu infizieren.

Sortenunterschiede hinsichtlich der Verwachsung der Triebspitzen sind erkennbar. Die Sorten "Schattenmorelle" und "Hedelfinger" wachsen, sofern virusfrei oder virusarm, gut an, während "Schneiders Späte Knorpelkirsche" eine geringe Anwachsneigung zeigt.

Die Frage, ob die Gibberellinsäure neben der Wachstumsförderung unter den extremen Bedingungen der Wärmekabine auch noch einen

Tabelle 22:

Das Verwachsen gefropfter Triebspitzen in Abhängigkeit von der Gibberellinsäureapplikation (GA 3), der Sorte und der Infektion mit NRV.

Wärmebehandlung: 60 Tage bei 38°C (20 Tage Adaptationszeit).

GA 3-Applikation: "Schattenmorelle" 100 ppm, "Hedelfinger" und "Schneiders Späte Knorpelkirsche" 50 ppm, 4 Applikationen in 5 tägigen Abstand während der Adaptationszeit.

Variante	gefropft	angewachsen absolut	angewachsen relativ (%)	krank	gesund ¹⁾
Schattenmorelle virusfrei + Wärmebeh.	20 ²⁾	16	80	0	16
Schattenmorelle NRV, keine Wärmebeh.	20	2	10	2 (+16) ³⁾	0
Schattenmorelle NRV + Wärmebeh.	20	11	55	3 (+4)	8
Schattenmorelle NRV + Wärmebeh. + GA 3	20	8	40	1 (+3)	7
Hedelfinger NRV + Wärmebeh.	20	10	50	2 (+7)	9
Hedelfinger NRV + Wärmebeh. + GA 3	20	6	30	1 (+3)	5
Schneiders Sp.Kn. NRV + Wärmebeh.	20	7	35	1 (+6)	6
Schneiders Sp.Kn. NRV + Wärmebeh. + GA 3	20	3	15	0 (+3)	3

1) Virusfreiheit nach 6 Biotests nachgewiesen,

2) alle Triebspitzen entstammen Langtrieben (länger als 20 cm),

3) Triebspitzen nicht angewachsen, Unterlage aber infiziert.

direkten viriziden bzw. virostatistischen Einfluß hat, konnte in unseren Untersuchungen nicht eindeutig geklärt werden. Die Ergebnisse lassen allerdings in ihrer Tendenz erkennen, daß dies nicht der Fall zu sein scheint. Die Chance, von einem Langtrieb, der ohne Gibberellineinwirkung gebildet wurde, eine virusfreie Spitze zu isolieren, ist ebenso groß wie von einem Langtrieb, der unter Einfluß von Gibberellin gebildet wurde.

Ein negativer Einfluß des Gibberellins kann jedoch beobachtet werden: Die Anwachsrate der Spitzentriebe, die gibberellinbehandelten Bäumen entnommen wurden, ist geringer als die unbehandelter Bäume. Die Erklärung dafür dürfte in anatomisch-morphologischen Veränderungen liegen, die durch GA 3 an den Trieben hervorgerufen werden. Da die Triebe unter Gibberellineinfluß rascher wachsen, sind sie auch dünner, der Triebdurchmesser ist geringer als der unbehandelter Bäume. Hinzu kommt noch, daß GA 3-behandelte Triebe in den oberen Abschnitten stärker lignifiziert sind. Beides sind Eigenschaften, die eine Verwachsung nach der Pflöpfung negativ beeinflussen.

5.3.3.4. Triebspitzenkultur in vitro

Als wir unsere Untersuchungen zur Thermotherapie verschiedener Steinobstviren begannen, war noch völlig unklar, ob mit den drei bisher beschriebenen Verfahren der Weitervermehrung wärmebehandelter Sproßteile die Viren erfolgreich eliminiert werden konnten. Da bei der Triebspitzenkultur auf aseptischen Nährböden auf kleinste Apexteile zurückgegriffen werden kann, war zumindest von der Konzeption her die Aussicht, mit ihrer Hilfe virusfreie Nachzuchten zu erhalten, am größten.

Die Versuche wurden mit NRV an den Sorten "Schattenmorelle" und "Hedelfinger", sowie RRV an "Hedelfinger" und Prunus avium F 12/I durchgeführt. Vor der Triebspitzenentnahme waren die Pflanzen einer 40- und 60tägigen Wärmebehandlung ausgesetzt. Als Nährböden hatten sich, wie bereits im Abschnitt 3.5.3. ausgeführt, besonders zwei, die Substrate 17 und 18, als geeignet für der-

artige Versuche erwiesen. Mit diesen beiden Nährböden führten wir die Untersuchungen durch, die in Tab. 23 dargestellt werden.

Da es in unseren Untersuchungen nicht gelang, Triebspitzen zur Eigenbewurzelung zu bringen, pflropften wir nach 12wöchiger Kulturdauer die vergrößerten Triebspitzen auf gesunde Unterlagen, was mit erheblichen Ausfällen verbunden war. Für die Nährbodenkultur wurden von jeder Variante 50 Triebspitzen angesetzt. Bedingt durch Kontaminationen, aber auch durch mögliche Beeinträchtigungen infolge der Sterilisation, sowie durch das spezifische Verhalten der einzelnen Sorten, wuchs nur ein Teil der isolierten Triebspitzen in den Gefäßen weiter. Bei "Schattenmorelle" und Prunus avium F 12/I waren es etwa 50 bis 60 % der angesetzten Triebspitzen, bei "Hedelfinger" weniger, etwa 30 bis 40 %.

Nach 12wöchiger Kulturdauer gelang es, die 3 - 5 mm langen Triebspitzen auf etwa 20 - 30 mm zu vergrößern, so daß sie übergepfropft werden konnten. Der größte Zuwachs konnte an Prunus avium F 12/I gemessen werden, gefolgt von "Schattenmorelle" und "Hedelfinger". Geringfügige Unterschiede zwischen den beiden Nährböden waren feststellbar. Triebspitzen auf Nährboden 18 wuchsen zu Beginn der Kultur in vitro etwas rascher, und die gemessenen Längen lagen nach 12wöchiger Kulturdauer über denen auf Nährboden 17.

Die Pfropfung auf gesunde Unterlagen war mit erheblichen Ausfällen verbunden, doch konnten einzelne virusfreie Triebspitzen erhalten werden.

Die von uns untersuchten Viren müssen alle als leicht eliminierbar bezeichnet werden. Sie können mit den früher genannten, einfacheren und praxisnäheren Methoden erfolgreich ausgeschaltet werden. Der Triebspitzenkultur in vitro dürfte aber dann eine große Bedeutung zukommen, wenn es sich um sehr schwierig zu eliminierende Viren handelt.

Tabelle 23: Möglichkeiten zur Gewinnung virusfreier Pflanzen durch Triebspitzenkultur in vitro nach einer Wärmebehandlung und späterer Pfropfung auf gesunde Unterlagen.

Wärme- behand- lung (Tage)	Nähr- boden 1)	Virus Sorte	Nährbodenkultur			Größe nach 12 Wochen (mm)	Pfropfkultur		
			isolier- te Trieb- spitzen (3-5 mm)	davon weiter- gewachsen absolut	relativ		Pfropfun- gen	ange- wach- sen	virus- frei 2)
40	17	NRV Schattenm.	50	27	54	19	20	3	3
60	17	NRV Schattenm.	50	21	42	25	16	2	2
40	17	NRV Hedelfinger	50	16	32	16	12	1	1
60	17	NRV Hedelfinger	50	15	26	21	10	4	3
40	18	NRV Schattenm.	50	32	64	23	16	1	1
60	18	NRV Schattenm.	50	29	58	27	13	2	2
40	18	NRV Hedelfinger	50	19	38	18	12	0	-
60	18	NRV Hedelfinger	50	17	34	23	14	4	4
40	17	NRV P.a.F 12/I	50	30	60	22	20	5	3
60	17	NRV P.a.F 12/I	50	31	62	24	17	2	2
40	17	NRV Hedelfinger	50	17	34	17	12	0	-
60	17	NRV Hedelfinger	50	19	38	19	14	3	3
40	18	NRV P.a.F 12/I	50	28	56	26	20	4	4
60	18	NRV P.a.F 12/I	50	34	68	29	20	2	2
40	18	NRV Hedelfinger	50	20	40	20	14	1	1
60	18	NRV Hedelfinger	50	16	32	23	10	3	3

1) Vgl. Tab. 14

2) Virusfreiheit nach 6 Biotests in 2 Jahren nachgewiesen

5.3.4. Behandlung von Pflanzen während der physiologischen Ruheperiode

Die Möglichkeit, Pflanzen während der physiologischen Ruheperiode einer Wärmebehandlung zu unterziehen, und danach möglicherweise virusfreie Knospen zu isolieren, sollte in einem weiteren Versuch geprüft werden.

Die nicht zurückgeschnittenen Pflanzen (als Unterlage verwendeten wir Prunus mahaleb) wurden Ende Oktober nach dem Blattfall in die Kabine gebracht. Die Adaptationszeit betrug 10 Tage. Unbelaubte Pflanzen können während der Ruheperiode mit höheren Temperaturen behandelt werden. Wir steigerten deshalb die Temperatur auf 40°C, die auch von den Pflanzen ohne nennenswerte Schäden bis zu 100 Tagen vertragen wurde. Zu einem Austrieb der Knospen kam es während dieser Zeit nicht.

Nach 40, 60, 80 und 100 Tagen isolierten wir an den Trieben je 20 Knospen und okulierten diese auf angetriebene, gesunde Unterlagen.

Die Ergebnisse in Tab. 24 lassen erkennen, daß die von uns untersuchten Viren, mit Ausnahme des CRV, selbst nach einer 100-tägigen Behandlungszeit nicht inaktiviert werden konnten; alle isolierten und angewachsenen Knospen waren noch viruskrank. Gewisse Erfolge konnten einzig an CRV-kranken "Schattenmorellen" erzielt werden. Nach 80- bis 100tägiger Wärmebehandlung war etwa die Hälfte der isolierten Knospen virusfrei.

Tabelle 24: Möglichkeiten zur Gewinnung virusfreier Pflanzen durch die Okulation von Knospen nach einer Wärmebehandlung von Pflanzen während der physiologischen Ruheperiode (Beginn der Wärmebehandlung nach dem Blattfall).

Wärme- behand- lung (Tage)	NRV		CRV		RRV		ToSRV		
	Schattenmorelle oku- liert	ange- wach- sen	Schattenmorelle oku- liert	ange- wach- sen	Hedelfinger oku- liert	ange- wach- sen	P. persica Slg. oku- liert	ange- wach- sen	
40	20	11	0	20	14	0	20	7	0
60	20	14	0	20	9	0	20	13	0
80	20	9	0	20	11	5 ¹⁾	20	6	0
100	20	7	0	20	6	3 ¹⁾	20	9	0

1) Virusfreiheit nach 6 Biotests nachgewiesen

6. DISKUSSION

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Methoden zu entwickeln, die es erlauben, aus viruskranken Pflanzen gesunde, von den Viren befreite Nachfolgepflanzen zu gewinnen. Im Rahmen dieser Untersuchungen sollte geprüft werden, inwieweit durch die Anwendung des Thermotherapieverfahrens vier Viruskrankheiten des Steinobstes direkt bekämpft werden können. Trotz einer Fülle von Publikationen (Tab. 1 und 2), in denen die Thermotherapie an Obstgehölzen erfolgreich angewendet werden konnte, waren die Kenntnisse gerade auf dem Gebiet der Kirschenviren und ihrer möglichen Eliminierung aus Pflanzen bzw. Pflanzenteilen noch sehr unzureichend.

Die Untersuchungen wurden mit folgenden Viruskrankheiten des Steinobstes durchgeführt: Chlorotische- und Nekrotische Ringfleckenkrankheit der Kirsche, die durch das Chlorotische bzw. Nekrotische Ringfleckenvirus (chlorotic ringspot virus - CRV; necrotic ringspot virus - NRV) verursacht werden und besonders häufig an Kirschen auftreten, allerdings nicht nur auf diese beschränkt sind, sondern an sehr vielen Gehölzen der Gattung Prunus vorkommen; ferner die Pfeffinger Krankheit der Kirsche, verursacht durch das Himbeerringfleckenvirus (raspberry ring-spot virus - RRV), sowie Triebstauchung des Pfirsichs, verursacht durch das Tomatenschwarzringfleckenvirus (tomato black-ring virus - ToSRV). Die beiden erstgenannten Viren wirken sich besonders nachteilig auf die generative Leistung der Gehölze, vor allem nach einer Neuinfektion aus, was zu einem starken Ertragsverlust der Bäume führt. Die vegetative Leistung der Gehölze wird nicht so stark beeinflusst, lediglich das NRV verursacht eine - bedingt durch die nekrotische Schockreaktion - stärkere Wuchsdepression, die sich jedoch im Laufe der Zeit wieder ausgleicht. Junge Bäume, in unseren Versuchen einjährige Veredlungen, überwinden diese Schockreaktion schon nach wenigen Wochen, während ältere, schon im Ertrag stehende Bäume erst ein bis zwei Jahre post infectionem wieder eine verstärkte Triebleistung zeigen, die der gesunder Bäume recht nahe kommt.

Sehr starke Wuchsdepressionen werden an Bäumen beobachtet, die mit den beiden letztgenannten Viren infiziert sind. Die vegetative Leistung der Bäume ist stark eingeschränkt, Rosetten- und Kurztriebbildung sind charakteristisch für beide Krankheiten, die Internodien sind stark verkürzt. Sowohl im Freiland, als auch unter günstigsten Gewächshausbedingungen ist dieses virusbedingte Verhalten stark ausgeprägt (vgl. Abb. 2).

Auch ein Einfluß von Viruserkrankungen auf den Verwachsungserfolg von Okulationen konnte nachgewiesen werden. Hiernach beeinträchtigt eine Erkrankung der Unterlage den Verwachsungserfolg stärker als eine solche des Reises, wobei Steinobst empfindlicher ist als Kernobst. Bei Verwendung ringfleckenkranke Prunus mahaleb-Unterlagen war die Verwachsung gegenüber gesunden Schattenmorellen-Knospen um 30 % verringert, während bei Verwendung viruskranker "Schattenmorellen"-Knospen auf gesunde Sämlinge der Verwachsungserfolg um 20 % herabgesetzt war (KLINKOWSKI, 1966).

In unseren Untersuchungen konnte beobachtet werden, daß die Verwachsung zwischen viruskrankem Reis und gesunder Unterlage sehr viel langsamer vonstatten ging und zudem mit größeren Ausfällen verbunden war, als wenn die Pfropfpartner beide gesund oder beide krank waren. Besonders augenfällig war diese Erscheinung beim NRV ausgeprägt, wenn kranke Reiser auf gesunde Unterlagen gepfropft wurden (Tab. 6). Wurden die gesunden Unterlagen einige Wochen zuvor mit dem gleichen Virus infiziert, so verringerten sich die Ausfälle erheblich. Die Ergebnisse zeigen, daß neben genetischen Faktoren auch Viruserkrankungen die Verträglichkeit von Reis und Unterlage beeinflussen können, so daß es nicht nur für die Baumschulpraxis, sondern auch für die züchterische Bewertung von Sorteneigenschaften wichtig ist, mit virusfreiem Material zu arbeiten.

Weiterkultur wärmebehandelter Pflanzenteile

Die Thermotherapie viruskranker Steinobstpflanzen ist das zentrale Problem dieser Arbeit. In keinem Falle gelang es, voll-

ständige Pflanzen von den Viren zu befreien. Nur kleine und kleinste Pflanzenteile konnten virusfrei gewonnen werden. Der Weiterkultur derartiger Pflanzenteile nach einer Wärmebehandlung mußte deshalb größte Aufmerksamkeit geschenkt werden. Reiserpfropfung, Okulation von Knospen und Stecklingsbewurzelung sind gängige gärtnerische Kulturverfahren, während die Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung) sowie die Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro Kulturverfahren darstellen, die nur in Ausnahmefällen verwendet werden.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß nur Knospen von solchen Trieben eine gewisse Gewähr für eine Virusfreiheit bieten, die während der Wärmebehandlung gebildet werden. Gerade aber diese Knospen sind nur unvollständig ausgebildet und wachsen deshalb selten auf den Unterlagen an.

In der Bewurzelung von Stecklingen, die wärmebehandelten Pflanzen entnommen wurden, sahen wir eine weitere Möglichkeit, virusfreie Pflanzen zu gewinnen. Stecklinge dreier Kultursorten der Kirsche und solche von Prunus avium F 12/I und Prunus mahaleb wurden auf ihre Bewurzelungsfähigkeit geprüft. Die genetische Potenz zur Bewurzelung ist schon bei den Unterlagenstecklingen gering, noch viel schwächer aber bei den Kultursorten. Ohne jegliche Wuchsstoffbehandlung konnten nur in den seltensten Fällen an den Unterlagenstecklingen Adventivwurzeln beobachtet werden (vgl. Tab. 12). Über die Anwendung von Wuchsstoffen zur Bewurzelungsförderung sind in der Literatur zahlreiche Angaben vorhanden (ALBRECHT, 1966; MEYER, 1964; SCHÖNBERG, 1965; FISCHER, 1969 u.a.). Ihr günstiger Einfluß auf die Adventivwurzelbildung besteht in der Aktivierung vorhandener Entwicklungspotenzen und somit in der Beschleunigung der Wurzelbildung. Gerade die beschleunigte Wurzelbildung konnte von verschiedenen Autoren nachgewiesen werden (COHRS, 1966; SCHIMMELPFENG, 1965; STRYDOM und HARTMANN, 1966 u.a.); auch in unseren Untersuchungen wurde sie beobachtet.

Die Bewurzelung von Stecklingen wurde in unseren Versuchen erst

durch die Auxinbehandlung ermöglicht. Die Wirkung der zugeführten Auxine äußert sich in einer Förderung der Teilungsaktivität, der Anlage von Wurzelvegetationskegeln und einer beschleunigten Gefäßdifferenzierung. IBS in der höchsten von uns geprüften Konzentration (2000 ppm) hatte einen günstigeren Einfluß auf die Wurzelbildung als IES, wie dies auch schon JANSEN (1969) feststellen konnte.

Sorten- und Artunterschiede waren erkennbar. So bewurzeln sich Stecklinge der Sorte "Schattenmorelle" nach Wuchsstoffbehandlung besonders rasch und kräftig, während die der Sorten "Hedelfinger" und "Schneiders Späte Knorpelkirsche", sowie solche der Arten Prunus avium F 12/I und Prunus mahaleb eine geringere Bewurzelungspotenz erkennen ließen. Weiterhin wirkt sich die Wärmebehandlung auf die morphologische und physiologische Qualität der Stecklinge negativ aus. Die Triebe sind stark verholzt und dünn, wahrscheinlich sind auch die Substanzreserven im Vergleich zu Stecklingen, die an Pflanzen unter normalen Bedingungen wuchsen, geringer. Dies dürften die Gründe sein, weshalb die in unseren Versuchen erreichten Bewurzelungsergebnisse im Vergleich zu zahlreichen anderen Angaben in der Literatur sehr niedrig sind. Wenn jedoch berücksichtigt wird, daß durch die Thermotheapie ja nur einzelne virusfreie Exemplare gewonnen werden sollen, die dann als Ausgangsklon für die weitere Vermehrung Verwendung finden, rechtfertigen auch die im Verhältnis niedrig liegenden Bewurzelungsergebnisse den großen Arbeits- und technischen Aufwand.

Die Triebspitzenpfropfung (Grünpfropfung) gilt als Standardmethode zur Weitervermehrung virusfreien Materials im Obstbau. Bei einer gewissen Handfertigkeit ist sie leicht durchzuführen und führt zu sehr guten Ergebnissen, wenn die entsprechenden technischen Voraussetzungen, wie sie in Abschnitt 3.4. beschrieben wurden, zur Verfügung stehen.

Von den Gewebe- und Organkulturen hat die Meristem- und Triebspitzenkultur zunehmend praktische Bedeutung erlangt. Mit ihrer

Hilfe ist es besonders im Zierpflanzenbau gelungen, bei verschiedenen Arten virusfreie Mutterpflanzen für eine weitere vegetative Vermehrung zu erhalten. Wir erprobten daher diese Methode auch an viruskranken Steinobstgehölzen.

Wie bereits in Abschnitt 2.5.2. erwähnt, verwendeten wir Nährböden, die in ihrer Grundzusammensetzung ähnlich denen von MURASHIGE und SKOOG (1962), LINSER und NEUMANN (1968) und NEUMANN (1968) waren. Aus arbeitstechnischen Gründen konnten die einzelnen Komponenten an Makro- und Mikronährstoffen, den organischen Zusätzen sowie den Vitaminen und Aminosäuren nicht geprüft werden, der Rahmen dieser Arbeit wäre dann gesprengt worden. Lediglich der Einfluß der Phytohormone, denen eine entscheidende Bedeutung bei Wachstums- und Differenzierungsvorgängen zukommt, wurde in verschiedenen Konzentrations- und Kombinationsstufen geprüft (Tab. 14). Obwohl die von uns geprüften Nährböden teilweise gute Ansätze für ein Weiterwachsen bzw. Differenzieren isolierter Sproßteile erkennen ließen, stellen sie sicher nicht das optimale Medium für Meristeme oder Triebspitzen der Kirsche dar. Verbesserungen wären denkbar und sicher auch zu erwarten, wenn alle Einzelkomponenten systematisch geprüft würden.

Verbesserungen in der Meristem- und Triebspitzenkultur von Obstgehölzen wären auch denkbar, wenn nach der Methodik von WINTON (1968 a+b) gearbeitet würde, der durch mehrmaliges Umsetzen der Kallusgewebe auf Nährböden unterschiedlicher Wachstoffsatzzusammensetzung schließlich Sproßdifferenzierung und Adventivwurzelbildung an Populus temuloides erreichen konnte. Eine weitere Möglichkeit konnte BOXUS (1970) aufzeigen: Er kultivierte zunächst ein Stück kambialen Gewebes der Kirsche in vitro, das er aufgrund einer günstigen Nährbodenzusammensetzung zu starkem Kalluswachstum anregte. Auf derartige Kalluswucherungen implantierte er in vitro Meristeme, besser noch Meristeme mit Blattprimordien verschiedener Kirschensorten bzw. Klone, die sich dann auf dem Kallusgewebe zu kleinen Sprossen differenzieren, von ihm aber bisher noch nicht zur Adventiv-

wurzelbildung veranlaßt werden konnten, sondern wie in unseren Versuchen auf gesunde Unterlagen übergepfropft werden. Diese Methodik dürfte dann ihre Berechtigung in der praktischen Ausführung haben, wenn selbst durch eine Wärmebehandlung nur virusfreie Meristeme, nicht aber größere Triebteile gewonnen werden können.

Kallusbildung an Kambiumgeweben der Kirsche ist ohne größere experimentelle Schwierigkeiten in vitro zu erreichen (FEUCHT, 1970). Auch in unseren Versuchen wurde sie häufig in starkem Maße beobachtet, doch eher als störend, denn als gewünscht betrachtet, da unsere Zielsetzung eine andere war. Für uns war eine zu starke Kallusbildung ungünstig, da durch sie das Apikalmeristem überwuchert und die Sproßdifferenzierung unterdrückt bzw. beeinträchtigt wurde. Die Nährböden 1,6 und 11 (Abb. 3) erwiesen sich als typisch für eine derartig starke Bildung undifferenzierten Kallusgewebes an Triebspitzen von Prunus avium F 12/I, während die Neigung zur Kallusbildung in den übrigen Nährböden zwar vorhanden, aber nur schwach ausgeprägt war. Die Wirkung der einzelnen Phytohormone auf die Kallusbildung konnte nicht genau analysiert werden. Die drei angeführten Nährböden unterscheiden sich wesentlich in ihrer Wuchsstoffzusammensetzung. Es dürfte wohl weniger der einzelne Wuchsstoff als vielmehr Konzentration und Kombination der Phytohormone das entscheidende Kriterium für eine erfolgreiche Kultur der Sproßteile sein.

Gewisse Einflüsse waren erkennbar, wenn wir einzelne Phytohormone den Nährböden nicht zusetzten. Während die Einflüsse von Kinetin und IES auf den Wuchsverlauf der Sproßteile weniger sichtbar waren - auch Nährböden, die einen dieser Wuchsstoffe nicht enthielten, waren durchaus befähigt, Wachstum und Differenzierung der Sproßspitze zu veranlassen (Abb. 3) - so war der Effekt des Gibberellins sehr deutlich ausgeprägt. Auf allen Medien, die kein Gibberellin enthielten (Nährböden 13, 14, 15, 16), kam es zu keiner Streckung der Triebspitzen, lediglich zu einer Differenzierung im Sinne einer Blättchenbildung, für die aber die übrigen Phytohormone verantwortlich sein dürften. Schon

in unseren Versuchen in der Wärmekabine konnte festgestellt werden, daß die Sprosse der Kirsche auf Sprühen mit Gibberellinsäure deutlich mit einem gesteigerten Längenwachstum reagieren. Auch diese in vitro-Versuche zeigten eine ähnliche Tendenz.

Deutlich zu erkennen war auch der Einfluß des myo-Inositols, einer Substanz aus der Gruppe der Hexitole ("Zuckeralkohole"), dessen Wuchsstoffcharakter nachgewiesen werden konnte (HASSID, 1967). Ohne myo-Inositol-Zusatz (Nährboden 20) kam es nur zu einem beschränkten Wachstum, nach spätestens 10 Wochen starben die Triebspitzen ab.

Die Nährböden 17 und 18 erwiesen sich in ihrer Wuchsstoffzusammensetzung als die geeignetsten für eine Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro (Abb. 3, 4, 5). Da es uns bis auf eine Ausnahme (Abb. 3, Nährboden 5) nicht gelang, die isolierten Triebspitzen zur Adventivwurzelbildung zu veranlassen, war die Vergrößerung und damit "Pfropfbarmachung" das wesentliche Ziel der Untersuchungen. Isolierte Meristeme erwiesen sich für ein derartiges Vorhaben als ungeeignet (Abb. 4). So war es nicht möglich, ein isoliertes Meristem zur Sproßbildung zu veranlassen. Lediglich undifferenzierte Kallusbildung wurde beobachtet. Bessere Ergebnisse erzielten wir dann, wenn Meristeme mit Blattprimordien isoliert wurden. Die bei ihnen schon eingeleitete Blattdifferenzierung wurde während der in vitro-Kultur fortgesetzt, und nach 12wöchiger Kulturdauer konnten Sproßteile von 10-15 mm Länge gewonnen werden. Die besten Ergebnisse erzielten wir allerdings mit 3-5 mm langen Triebspitzen, die sich in einer 12wöchigen Kultur bis auf 25 mm vergrößern ließen und auf gesunde Unterlagen gepfropft werden konnten. Triebspitzen sowie Meristeme mit Blattprimordien von Prunus avium F 12/I und "Schattenmorelle" waren raschwüchsiger als solche von "Hedelfinger" (Abb. 5). Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die in vitro-Kultur kleiner isolierter Sproßteile, die in mehrwöchiger Kultur zu voll differenzierten Sprossen weiterwachsen, geeignet ist, virusfreies Material vegetativ weiterzuvermehren.

Die Temperatur als aktivitätsbestimmender Faktor

Der Erfolg der Thermotheapie beruht auf der unterschiedlichen Empfindlichkeit von Wirtsorganismus und Virus. Die Gründe für diese unterschiedliche Empfindlichkeit sind noch nicht näher bekannt. Die Frage, ob durch eine Wärmebehandlung in vivo eine Virusinaktivierung durch Denaturierung, ein verstärkter Virusabbau, eine verminderte Virussynthese oder ein verminderter Transport der Viruspartikel erfolgt, ist beim gegenwärtigen Stand der wissenschaftlichen Untersuchungen noch nicht klar zu beantworten. BAWDEN (1964) stellt sich den Inaktivierungsvorgang, wie er vor allem bei der Warmwasserbehandlung viruskranker Pfropfreiser, weniger aber bei einer Langzeittherapie in einer Wärmekabine zu erwarten ist, in drei Stufen vor:

- a) Zunächst wird der Proteinkomplex angegriffen und die Bindungen zum Nukleinkern werden gelockert. Er spricht in diesem Fall von einer reversiblen Inaktivierung, da die gelockerten Bindungen wieder gefestigt werden können, also eine Rekonstruktion möglich ist.
- b) Bei weiterer Wärmebehandlung tritt eine völlige Trennung von Protein und Nukleinkern ein. Beide werden in ihrer Struktur stark verändert, und die Infektiosität geht verloren. Er spricht dann von einer irreversiblen Inaktivierung. Lediglich die serologische Aktivität bleibt erhalten.
- c) Bei der Denaturierung, der letzten Stufe, zerfällt der Viruskomplex. Alle nachweisbaren Eigenschaften eines Virusmoleküls, einschließlich der serologischen Aktivität, sind dann verlorengegangen.

KLINKOWSKI (1967) schreibt in seinem Lehrbuch "Pflanzliche Virologie I" S. 282: "Es besteht Grund zu der Annahme, daß dem Temperaturkoeffizienten der thermalen Inaktivierung, der als " Q_{10} " bezeichnet worden ist, im Zusammenhang mit der Wärmetherapie gewisse Bedeutung zukommt. Bei Erhitzung in vitro lassen sich die Viren in 2 Gruppen einteilen, so wie dies in gleicher Weise für ihre Gestalt und ihre chemische Zusammensetzung zutrifft.

Viren mit stäbchenförmigen Partikeln enthalten ca. 6 % RNS bei einem hohen Wert für Q_{10} . Der Infektiositätsverlust bei Erhitzung ist mit ihrer Denaturierung korreliert und die Inaktivierung erfolgt nur dann, wenn die Erhitzung nahezu die Werte der thermalen Denaturierung erreicht. Isometrische Viren, deren RNS-Gehalt das Dreifache und mehr beträgt, haben einen kleineren Wert für Q_{10} und verlieren die Infektiosität bei Temperaturen, die weit unter ihren thermalen Denaturierungspunkten liegen."

LE BEURIER und HIRTH (1966) sowie HIRTH (1970) konnten in Untersuchungen an verschiedenen Stämmen des Tabakmosaikvirus (TMV) feststellen, daß die Temperatur einen starken Einfluß auf die Multiplikationsgeschwindigkeit hatte. Wenn sie infizierte Tabakpflanzen einer längeren Wärmebehandlung bei 35°C aussetzten, ging die Viruskonzentration der Preßsäfte mit der Dauer der Wärmebehandlung stark zurück. Des weiteren konnten sie eine starke Degradierung beobachten, wenn sie gereinigte Preßsäfte elektronenmikroskopisch und im Dichtegradienten untersuchten. Pflanzen, die einer 30tägigen Wärmebehandlung ausgesetzt waren, wiesen etwa 50 % degradierte, d. h. in Bruchstücke unterschiedlicher Länge zerfallene Viruspartikel, die ihre Infektiosität verloren hatten, auf. Auch konnten sie beobachten, daß die hitzetoleranten Stämme meist solche waren, die nur schwache Symptome an der Pflanze bewirkten, wogegen sehr aggressive Stämme hitzelabiler, also leichter zu inaktivieren waren.

LYTTLETON und MATHEWS (1958) konnten nachweisen, daß der Verlust der Infektiosität in der Pflanze bei hohen Temperaturen durch die Abtrennung der Nukleinsäure verursacht wird. In ihren Versuchen mit dem Kohlrübenvergilbungsvirus (turnip yellow mosaic virus) waren nach 2 Stunden bei 37°C 40 % der Nukleinsäure freigesetzt.

Diesen bisher beschriebenen Auffassungen, die Gestalt, Struktur und RNS-Gehalt des Virus in den Mittelpunkt stellen, stehen all jene gegenüber, die mehr dem Wirt-Parasit-Verhältnis, also dem Wechselspiel zwischen Virus und Pflanze Bedeutung zumessen.

So kommen NYLAND und GOHEEN (1969) in einer kritischen Literaturbetrachtung, in der alle bisher erfolgten Versuche zur Thermotherpaie erfaßt sind, zu dem Schluß, daß die morphologische Gestalt des Viruspartikels keinen Anhaltspunkt dafür bietet, ob das Virus in vivo leicht oder schwer zu inaktivieren ist. Sie teilen alle bisher exakt untersuchten Viren in nachfolgende Gruppen ein:

- a) Leicht zu inaktivierende Viren (easy to inactivate). Ganze Pflanzen konnten geheilt werden, Reiser und andere Sproßteile konnten durch eine Warmwasserbehandlung von den Viren befreit werden.
In diese Gruppe fielen 10 stäbchenförmige und 13 sphärische Viren.
- b) Schwierig zu inaktivierende Viren (difficult to inactivate). Einzelne Sproßteile wie Spitzentriebe oder Knospen konnten virusfrei isoliert werden. 9 stäbchenförmige und 6 sphärische Viren wurden dieser Gruppe zugeordnet.
- c) Nicht zu inaktivierende Viren (viruses not inactivated by heat treatment in vivo). In diese Gruppe fielen 6 stäbchenförmige und 19 Viren noch unbekannter Morphologie. Die Autoren äußern den Verdacht, daß es in diesen Fällen weniger am Virus, sondern vielmehr an der Wirtspflanze und deren Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen gelegen haben könnte, daß die Viren nicht eliminiert werden konnten.

Nach ihrer und BAWDEN'S (1966) Ansicht dürften alle Pflanzenviren, gleich welcher Morphologie, in vivo inaktiviert, zumindest aber erfolgreich eliminiert werden, sofern günstige Behandlungskombinationen gewählt werden.

Nach WEIL (1958) ist die Auffassung vertretbar, daß es für bestimmte Wirt-Virus-Kombinationen eine optimale Inaktivierungstemperatur oder -zeit gibt, die eine befriedigende Inaktivierung des Viruskomplexes herbeiführt, zum anderen aber vom Wirt ohne wesentliche Schäden vertragen wird. Da durch das Eindringen des

Virus in die Zelle das physiologische Gleichgewicht in der Pflanze gestört wird, ist eine komplexe Wirt-Virus-Betrachtung angebracht. Nur bei dieser Betrachtungsweise sind die unterschiedlichen Ergebnisse der Wärmebehandlung von Viren in vivo verständlich. Dies mag auch der Grund dafür sein, daß sich gleiche Viren in unterschiedlichen Wirtspflanzen sehr verschieden gegenüber einer Wärmebehandlung verhalten können. Auch wird es je nach dem physiologischen Zustand der Wirtspflanze und den Eigenschaften der verschiedenen Stämme eines Virus immer Unterschiede geben, so daß alle Versuche zur Erfassung des Potentials der kinetischen Energie für eine Inaktivierung in vivo nur von begrenztem Wert sein können (WU und RAPPAPORT, 1961; PRICE, 1940; PRICE und KNORR, 1956). KASSANIS und POSNETTE (1961) stellen fest, daß in einigen Fällen durch höhere Temperaturen das Virus vernichtet wird, bei anderen Virusarten, z. B. bei der buschigen Verzwergung der Tomate (tomato bushy stunt virus) und beim Tabaknekrosevirus, aber nur eine Hemmung zu erreichen ist: sie stellen ihre Reproduktion schon bei 36°C ein. Die beiden Autoren stellen deshalb die Hypothese auf, daß die Inaktivierung bzw. die Inhibition des Virus in der Pflanze nicht durch direkten Einfluß der Wärme bewirkt wird, sondern daß durch die Wärme Störungen in der Pflanzenzelle entstehen, durch welche die Reproduktion des Virus unterbunden wird. Mit dieser Theorie wäre auch zu erklären, weshalb sich die verschiedenen Wirtspflanzen unterschiedlich gegenüber gleichen Viren im Thermo-therapieverfahren verhalten. GEARD (1958) erklärt den Mechanismus der Thermo-therapie derart, daß die hohen Temperaturen eine starke Destruktion essentieller chemischer Aktivitäten in Virus und Wirt bewirken, wobei sich allerdings die Wirtspflanze besser an derartige Temperaturen adaptieren kann und die Schädigungen überwindet, während das Virus nachhaltig beeinflusst wird.

Alle vier von uns untersuchten Viren, die von polyedrischer Gestalt sind, können der zweiten Gruppe im NYLAND'schen Schema - schwierig zu inaktivierende Viren - zugeordnet werden. So war es nicht möglich, das NRV und CRV durch eine Warmwasserbehandlung zu inaktivieren (Tab. 16 und 17). Wohl trat ab 48°C eine

Maskierung, ab 50 bis 52°C eine Teilinaktivierung der Viren ein, die durch das Versagen des ersten Shirofugentestes angezeigt wurde, eine Heilung der Reiser konnte jedoch nicht erreicht werden. Schon NYLAND (1959, 1964) konnte feststellen, daß sich bei Kirschen die obere Grenze der Wärmeverträglichkeit bei etwa 50°C Wassertemperatur und einer Behandlungsdauer von 18 Minuten befindet. Ihm gelang es, die nekrotische Rostfleckigkeit an der Süßkirschensorte "Lambert" (necrotic rusty mottle virus) mit einer Warmwasserbehandlung von Reisern erfolgreich zu bekämpfen. Die hohe Sensibilität von Kirschenreisern gegenüber Temperaturen im 50°C-Bereich erlaubt es nicht, das NRV und CRV mit dieser Methode zu inaktivieren. Auch die Tatsache, daß mit der Langzeittherapie in einer Wärmekabine keine geheilten Pflanzen, sondern nur einzelne virusfreie Sproßteile gewonnen werden konnten, spricht für eine Zuordnung aller vier untersuchten Virosen zur zweiten Gruppe. Bei einigen Virosen, wie der Mosaikkrankheit (Apfelmosaikvirus) und der Gummiholzkrankheit (Gummiholzvirus) des Apfels, kann die ganze Pflanze, die Terminalknospen der Triebe eingeschlossen, vollkommen ausgeheilt werden (POSNETTE und CROPLEY, 1956). Sie können deshalb der Gruppe der leicht zu inaktivierenden Viren zugeordnet werden. Inwieweit von einer Inaktivierung der von uns untersuchten Viren im Sinne der BAWDEN'schen Definition gesprochen werden kann, muß dahingestellt bleiben.

Temperaturen über 35°C üben einen starken Einfluß auf die Mobilität der Viren im pflanzlichen System aus (WELSH und NYLAND, 1965; YARWOOD, 1967). Unsere Untersuchungen zur Ausbreitungs- bzw. Wanderungsgeschwindigkeit des NRV in basal und terminal infizierten Kirschensämlingen ergaben, daß sich das Virus im 18- und 28°C-Bereich sehr schnell in der Pflanze ausbreiten kann. 9 bis 12 Wochen p.i. waren die Pflanzen in ihrer gesamten Länge von 2,50 m vom Virus durchdrungen, wobei die Virusausbreitung bei terminaler Inokulation rascher vonstatten ging als bei basaler Inokulation. Eine sehr deutliche Inhibition konnte dagegen bei Temperaturen von 38°C nachgewiesen werden. Da sich die Viren

nicht aktiv ausbreiten, sondern auf einen passiven Transport vornehmlich im Phloem angewiesen sind, ist die raschere Ausbreitung bei terminaler Inokulation verständlich. Bei Temperaturen von 38°C sind die Transportvorgänge in der Pflanze stark gestört (YARWOOD, 1967; YARWOOD und HOLM, 1962), wenngleich die Pflanze eine gewisse Adaptationsfähigkeit besitzt, und anfänglich stärker auftretende Schädigungen nach und nach gemindert werden können. Das NRV war in den ersten Behandlungswochen durchaus in der Lage, sich etwa 50 cm im Baum auszubreiten, nach 12-wöchiger Behandlungsdauer konnte es jedoch nur noch sporadisch im engeren Umkreis der Infektionsstelle nachgewiesen werden. Neben dem behinderten Transport dürften zu diesem Zeitpunkt Inaktivierungsvorgänge eingesetzt haben, zum anderen dürfte die Reduplikation des Virus unterbunden worden sein. Wenn man bedenkt, daß inokulierte Rindenstücke nur ein begrenztes Virusreservoir darstellen, die Wirtspflanze bei Temperaturen von 38°C aber nur noch in sehr beschränktem Umfang oder garnicht mehr zur Virussyntese befähigt ist, und dazu noch echte Inaktivierungsvorgänge hinzukommen, werden die erzielten Ergebnisse verständlich.

Wir führten diese Ausbreitungsstudien lediglich mit dem NRV durch. BOLWYN und HELTON (1964) haben in Untersuchungen mit einem stark (severe strain) und einem schwach pathogenen Stamm (mild strain) des Prunus ringspot virus nachweisen können, daß der schwachpathogene Stamm eine raschere und gleichmäßigere Ausbreitung in den terminal inokulierten Bäumen erfährt. Ähnlich wie in unseren Versuchen, konnten auch sie deutliche Unterschiede bei basaler und terminaler Inokulation feststellen. Die Tatsache, daß sich der stark pathogene Stamm langsamer und ungleichmäßiger im pflanzlichen System ausbreitete, führten sie darauf zurück, daß dieser im Phloem nekrotische Reaktionen auslöste und durch diese Abwehrreaktion der Pflanze in seiner Ausbreitung gehemmt wurde. Daß die Ausbreitungsgeschwindigkeit bei den einzelnen Viren auch unter normalen Bedingungen schon sehr unterschiedlich sein kann, konnten CAMPBELL (1970) und MARENAUD (1970) bei verschiedenen Apfelvirosen feststellen.

Auch die unterschiedlichen Inkubationszeiten (Tab. 5) der vier von uns untersuchten Virosen geben einen Hinweis dafür.

Neben der Ausbreitungsgeschwindigkeit des NRV sollte auch der Einfluß der Temperatur auf die Virusübertragung studiert werden. Auch für sie ist es zutreffend, daß hohe Temperaturen einen stark hemmenden Einfluß erkennen lassen, wie dies FRIDLUND (1967 a+b, 1968) schon am Beispiel des Prunus necrotic ringspot virus nachweisen konnte. Er vertritt die Ansicht, daß Viren, die eine lange Kontaktzeit der kranken Explantate bei hohen Temperaturen benötigen, um zu einer Infektion der inokulierten Wirtspflanze zu gelangen, einen Hinweis dafür geben, daß sie auch leichter zu inaktivieren sind. Wir konnten feststellen, daß die Zeit, die für eine Übertragung des Virus aus dem eingesetzten Rindenstück in die Rezeptorpflanze erforderlich ist, bei Temperaturen von 38°C erheblich verlängert wurde (Tab. 18).

Für das NRV und CRV waren bei 38°C Kontaktzeiten zwischen 5 und 10 Tagen nötig, während unter normalen Gewächshausbedingungen schon nach 2 bis 4 Tagen Neuinfektionen beobachtet wurden. RRV und ToSRV benötigen schon unter normalen Bedingungen längere Kontaktzeiten, etwa 4 bis 5 Tage. Unter den Bedingungen in der Wärmekabine konnten dagegen erst nach einer 20tägigen Kontaktzeit erste Neuinfektionen festgestellt werden. Ein Hinweis aber, daß längere Kontaktzeiten eine raschere Inaktivierung der Viren erwarten lassen, wie dies FRIDLUND konstatierte, ließ sich in unseren Untersuchungen nicht feststellen. Es war im Gegenteil so, daß NRV und CRV, die schon nach kürzeren Kontaktzeiten zu einer Neuinfektion der Unterlagen befähigt waren, die leichter zu eliminierenden Viren waren, wie dies in den nachfolgenden Ausführungen noch diskutiert werden soll.

Der Nachweis, daß ein Sproßteil durch eine Wärmebehandlung auch wirklich virusfrei wurde, muß durch die Testung erbracht werden. Die nach einer Wärmebehandlung ~~gewonnenen~~ Sproßteile kann man nach ihrem Gesundheitszustand in solche, die völlig geheilt wurden, und solche, in denen die Viren nur teilweise inaktiviert sind,

einteilen. Wird mit der Testung unmittelbar nach der Wärmebehandlung begonnen, so können auch Triebteile, die nicht völlig von den Viren befreit wurden, als gesund erscheinen, da durch die Thermotherapie die Viruskonzentration in der Pflanze so weit herabgesetzt wurde, daß sowohl die Tests mit gehölzindikatoren als auch die mit krautigen Pflanzen auf Virusfreiheit schließen lassen. Werden den Pflanzen etwa 8 bis 12 Wochen nach Abschluß der Wärmebehandlung erneut Proben für die Testung entnommen, so treten auf den Testpflanzen wieder die typischen Virussympptome auf. Die Viruskonzentration hat anscheinend nach dieser Zeit wieder einen Grad erreicht, der ausreicht, um in der Testpflanze die Infektion auszulösen. Selbst bei einem sehr empfindlichen Test, wie ihn der Shirofugentest darstellt, konnten die Ringfleckenviren der Kirsche erst nach 8 bis 15 Wochen wieder nachgewiesen werden. Da die Symptome in der Regel durch die Wärmebehandlung maskiert werden, kann auch durch eine visuelle Beurteilung der Pflanzen nichts über deren Virusfreiheit gesagt werden. Aufgrund dieser Befunde ist daher zu empfehlen, mit den Biotests erst 3 bis 4 Monate nach erfolgter Wärmebehandlung zu beginnen, andernfalls könnten falsche Schlüsse aus den Testergebnissen gezogen werden.

Triebwachstum während der Wärmebehandlung und Virusfreiheit

Vielfältige Versuche, besonders solche mit Apfelviren, haben gezeigt, daß die Viren bei Temperaturen von 35 bis 40°C nicht in der Lage sind, sich zu reduplizieren und in den Neuzuwachs, der während der Wärmebehandlung gebildet wird, einzudringen (CAMPBELL und BEST, 1963; WELSH und NYLAND, 1965; CAMPBELL, 1968). Dieses Nichtvermögen, den Neuzuwachs zu durchdringen, ist für die Erzielung virusfreien Materials von außerordentlich großer Bedeutung.

Alle Versuche, virusfreie Nachzuchten durch die Isolierung von Knospen wärmebehandelter Pflanzen zu gewinnen, blieben weitgehend erfolglos. Isolierten wir Knospen NRV-, CRV- und RRV-kranker Pflanzen aus dem Altholz und okultierten diese auf virusfreie Unterlagen, so waren selbst nach einer 80tägigen Wärme-

behandlung bei 38°C die entsprechenden Viren noch vorhanden. Schon nach wenigen Wochen zeigten sich die typischen Krankheitssymptome erneut an den Okulanten (Tab. 19). Auch wenn die Knospen neugebildeten Trieben entnommen wurden, konnten nur in ganz seltenen Fällen virusfreie Pflanzen gewonnen werden. Hier ließ sich jedoch schon eine gewisse Tendenz beobachten, denn während Knospen des Altholzes nie virusfrei gewonnen werden konnten, waren von den neugebildeten Trieben immerhin einige wenige Knospen NRV- bzw. CRV-frei; die neugebildeten Triebe mußten also virusärmer, in den oberen Regionen möglicherweise virusfrei sein. Erschwerend kommt bei der Isolation von Knospen der neugebildeten Triebe hinzu, daß diese unter den Bedingungen der Wärmekabine nur sehr unvollständig ausgebildet sind. Nur Knospen der unteren Triebpartien waren lebensfähig, die der oberen Regionen wuchsen nie oder höchst selten auf den Unterlagen an. Gerade aber die Knospen der oberen Zweigabschnitte hätten eine höhere Gewähr für eine mögliche Virusfreiheit geboten. Leicht zu inaktivierende Viren können mit dieser Methode durchaus bekämpft werden. CAMPBELL (1968) prüfte sieben Viren des Apfels und konnte das Apfelmosaikvirus, das die Rindenschuppigkeit an Malus platycarpa verursachende Virus, das Gummiholzvirus, das Virus der chlorotischen Blattfleckung und das an der Sorte "Virginia Crab" Verfall hervorrufoende Virus mit dieser einfachen Methode inaktivieren.

Ferner behandelten wir Pflanzen während der physiologischen Ruheperiode. Nach dem Blattfall wurden sie in die Wärmekabine gebracht und verblieben darin bis zu 100 Tagen bei 40°C. Zu einem Austrieb kam es während der Wärmebehandlung nicht. Auch mit dieser Versuchsanstellung konnten nur beim CRV gewisse Erfolge erzielt werden. Nach 80 bis 100tägiger Wärmebehandlung erwiesen sich etwa 50 % der okulierten Knospen als virusfrei; NRV, RRV und ToSRV konnten dagegen auf diese Weise nicht inaktiviert werden (Tab. 24).

NYLAND (1964) sowie WELSH und NYLAND (1965) weisen darauf hin,

daß eine Wärmebehandlung während der physiologischen Ruheperiode gute Resultate erbringen kann. In ihrem modifizierten Verfahren wurden zunächst Knospen kranker Pflanzen auf eine Unterlage okuliert. Nach dem Verwachsen der Partner und dem Eintritt der Pflanze in die physiologische Ruheperiode erfolgte die Wärmebehandlung, während der das "schlafende Auge" nicht austrieb. Nach mehrwöchiger Behandlung trennten sie die Knospen wieder von der Pflanze und setzten sie in eine gesunde Unterlage ein. Sehr häufig waren dann die solcherart isolierten Knospen virusfrei. Leicht zu inaktivierende Viren, worunter auch das CRV fällt, können mit einer solchen Methodik eliminiert werden. Möglicherweise wären die Ergebnisse mit dem CRV noch besser ausgefallen, wenn wir das NYLAND'sche Verfahren angewendet hätten, denn es ist durchaus vorstellbar, daß eine vorübergehende Verwachsung von Knospe und Unterlage nicht ausreicht, um eine hohe Viruskonzentration in der Pflanze zu erzielen. Eine Knospe mit geringer Viruskonzentration dürfte während der Wärmebehandlung schneller gesunden als eine solche mit hoher Viruskonzentration, wie sie für unsere CRV-kranken Pflanzen zu vermuten war. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist aber andererseits anzunehmen, daß auch dieses modifizierte Verfahren bei den übrigen drei Viren nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt hätte.

CAMPBELL (1962) sowie GUENGERICH und MILLIKAN (1964) weisen darauf hin, daß sehr oft das Virus in den Lateralknospen erhalten bleibt, während das Ausheilen der Vegetationsgipfel rasch wachsender Triebe fast die Regel bildet. All unsere Bemühungen verfolgten das Ziel, einen raschen Wuchs der Triebe während der Wärmebehandlung zu erreichen.

Der günstigste Zeitpunkt für eine Wärmebehandlung von Steinobstpflanzen liegt nach unseren Untersuchungen im Sommer. Für Kirsche und Pfirsich dürfte dieser Zeitpunkt gekommen sein, wenn ein gewisser Triebabschluß, angezeigt durch das Setzen der Terminalknospe, beobachtet wird. Gerade Kirschen schließen unter

Freilandbedingungen schon sehr frühzeitig, etwa Mitte bis Ende Juli, mit dem vegetativen Wachstum der Triebe ab. Die diesjährigen Triebe sind zu diesem Zeitpunkt gut ausgereift, die Rinde hat sich gebräunt, die Knospen haben sich vollständig ausdifferenziert. Während bei Kernobst der günstigste Zeitpunkt bei Austriebsbeginn im Frühjahr zu liegen scheint, hat sich dieser für unsere Steinobstpflanzen nicht bewährt. Orientierende Versuche dazu zeigten, daß die Kirsche aufgrund ihrer hohen Temperatursensibilität den Wechsel von kühlen Freilandtemperaturen - Kirschen haben, wie auch andere Obstgehölze in unserer Klimazone, ein natürliches Kältebedürfnis - zu den Bedingungen der Wärmekabine nur schlecht vertragen. Werden die Bäume zu frühzeitig, also vor Abschluß der Nachruheperiode in die Kabine gebracht, so wird diese Nachruheperiode durch die hohen Temperaturen noch verlängert und die Pflanzen treiben nicht aus. Werden die Bäume dagegen in die Kabine gebracht, wenn schon ein beginnender Austrieb zu verzeichnen ist, so führt dieser krasse Wechsel dazu, daß die Pflanzen das Wachstum einstellen. Darüber hinaus konnten starke Hitzeschäden gerade bei einer Frühjahrsbehandlung beobachtet werden.

Die Wärmetoleranz ist je nach verwendeter Unterlage unterschiedlich ausgeprägt (Abb. 9). Pflanzen mit der Unterlage Prunus mahaleb erwiesen sich als sehr tolerant gegenüber Temperaturen von 38°C. Selbst nach 70tätiger Wärmebehandlung waren weniger als 40 % der Pflanzen abgestorben, während bei Prunus avium Slg. und Prunus avium F 12/I nahezu 100 % der Pflanzen abgestorben waren. Prunus persica Slg. zeigte ebenfalls eine gute Wärmeverträglichkeit. Eine 10 bis 20tägige Adaptation an die Raumtemperatur erwies sich nötig, um schockartige Hitzeschäden an den Pflanzen zu vermeiden.

Verschiedene biotische und abiotische Faktoren üben einen fördernden oder hemmenden Einfluß auf das Wachstum der Pflanzen aus. Ein Rückschnitt der diesjährigen Triebe auf zwei Knospen je Trieb begünstigt die Neutriebbildung (Abb. 10). Die verbleibenden zwei Knospen treiben sehr rasch, und die Triebe wachsen während der Adaptationsperiode zügiger. Nach Erreichen der End-

temperatur von 38°C ist die Pflanze allerdings nicht mehr in der Lage, einen nennenswerten Zuwachs zu erbringen.

Die Unterlage übt einen nicht unwesentlichen Einfluß auf die Neutriebbildung aus (Abb. 11). Prunus avium Slg. und Prunus avium F 12/I lassen einen positiven Einfluß auf die Austriebsleistung der Sorten erkennen, während Prunus mahaleb zu Beginn der Behandlung das Wachstum verzögert; im späteren Verlauf der Wärmebehandlung zeigten allerdings Bäume auf dieser Unterlage noch einen merklichen Zuwachs. Auch Sorteneinflüsse wurden erkennbar, "Schattenmorelle" wies ein stärkeres vegetatives Wachstum als "Hedelfinger" auf.

Eine große Bedeutung kommt der Stammlänge zu. Je länger der Stamm ist, um so geringer ist die Trieblänge, und um so schneller sterben die Pflanzen auch ab (Abb. 13). Es kann deshalb empfohlen werden, die Pflanzen dicht über dem Wurzelhals zu pfropfen. Gestörte Transportvorgänge bei Temperaturen von 38°C dürften der Grund für die negative Beeinträchtigung des Wachstums durch lange Stämme sein.

Ähnlich wie unter natürlichen Bedingungen (Abb. 2) ist auch unter den Bedingungen der Wärmekabine der starke Einfluß der Viruskrankheit auf die Triebleistung erkennbar (Abb. 12). Während NRV und CRV nur geringfügige Wuchsdepressionen hervorrufen, sind diese beim RRV und ToSRV sehr stark ausgeprägt. Die mit diesen beiden Viren infizierten Pflanzen lassen nur eine sehr geringe Neigung zur Neutriebbildung während der Wärmebehandlung erkennen, so daß nur Kurztriebe geerntet werden können. Diese Erscheinung veranlaßte uns, die Möglichkeit des Einsatzes von Phytohormonen zur Triebverlängerung zu prüfen. Von den drei geprüften Substanzen β -Indolylessigsäure (IES), 6-Furfurylaminopurin (Kinetin) und Gibberellinsäure 3 (GA 3) erwies sich die letztgenannte als die wirksamste. Die über das Blatt applizierte GA 3 bewirkte eine Ausbildung längerer Triebe gerade auch an den Pflanzen, die mit den stark wachstumshemmenden Viren infiziert waren.

Die Hauptwirkung der Gibberellinsäure soll nach ARNEY und MANCINELLI (1966) in einer Stimulierung des Nukleinsäurestoffwechsels und der Zellteilung bestehen; die nachfolgende Zellstreckung soll eine sekundäre Erscheinung sein. Das morphologische Kennzeichen der Gibberellinwirkung ist das gesteigerte Längenwachstum, das an den verschiedensten Pflanzen nachgewiesen werden konnte (BACHERLARD, 1969; HILLMANN, 1970; KURAISHI und MUIR, 1963; PONT LEZICA, 1969; SIVORI und RUMI, 1960; WITTWER und BUCOVAČ, 1957). Ein gesteigertes vegetatives Wachstum an Steinobstpflanzen infolge von Gibberellinsäureapplikation konnte in Versuchen von BLOMMAERT und HURTER (1959), BRADLEY und CRANE (1960), BRIAN et al. (1959), CARLONE (1959) sowie HULL und LEWIS (1959) gezeigt werden.

WITTWER (1968) gelang es, den Verzweigungseffekt, der durch Vergilbungsviren der Sauerkirsche hervorgerufen wird, durch mehrere Spritzungen von 50 ppm GA 3 während der Vegetationsperiode aufzuheben. Mit dieser Behandlung konnte er den qualitativen und quantitativen Ertrag der Bäume positiv beeinflussen. Ähnliche Versuche sind auch von BASAK (1967) bekannt, der ebenfalls an vergilbungsranken Sauerkirschen mit der Gibberellinsäure Triebleistung und Ertrag steigern konnte.

Die eigenen Untersuchungen haben gezeigt, daß die applizierte Gibberellinsäure auch in der Wärmekabine einen rascheren Austrieb der Knospen bewirkt, und andererseits die Zuwachsrates der neugebildeten Triebe erhöht wird. Selbst im 38°C-Bereich ist in der ersten Behandlungsperiode ein zügigeres Wachstum zu beobachten als an unbehandelten Pflanzen (Abb. 14). Gesteigerte Wuchsaktivitäten waren besonders an den Bäumen erkennbar, die mit dem RRV und ToSRV infiziert waren. Während NRV- und CRV- kranke Bäume auch ohne Gibberellinbehandlung Neutriebe bilden, die für die Weiterkultur geeignet sind, war dies bei den mit den erstgenannten Viren infizierten Bäumen nur sehr selten der Fall. Durch die Gibberellinanwendung wurde es möglich, auch von diesen Bäumen Triebspitzen zu ernten und einer Weiterkultur zuzuführen (Abb. 15). Für die Sauerkirschensorte "Schattenmorelle"

erwiesen sich 100 ppm GA 3 als geeignetste Konzentration, die Süßkirschensorten "Hedelfinger" und "Schneiders Späte Knorpelkirsche" reagierten auf 50 ppm GA 3 mit der stärksten Wachstumsleistung (Abb. 16). GA 3 bewirkt nicht nur eine Zellstreckung, sondern auch eine Zellvermehrung. So konnten wir an behandelten Pflanzen feststellen, daß die Internodien nicht nur länger waren als die unbehandelten Pflanzen, es kam auch zur Bildung einer größeren Zahl von Nodien (Abb. 17). Die dichte Nodienfolge im oberen Sproßabschnitt GA 3-behandelter Pflanzen läßt erkennen, daß selbst unter den Bedingungen der Wärmekabine noch hohe Wuchsaktivitäten vorliegen.

Ein weiteres Charakteristikum für die Gibberellinsäurewirkung besteht in der Aufhebung der Apikaldominanz. Diese ist an unbehandelten Bäumen sehr stark ausgeprägt, meist wird nur ein längerer Austrieb der oberen Knospe erreicht, während die darunter liegenden Knospen in ihrem Austrieb sehr stark gehemmt werden. GA 3 bewirkte, daß alle nach einem Rückschnitt an der Pflanze verbliebenen Knospen etwa gleich stark austrieben, so daß von einer Pflanze sehr viel mehr Triebspitzen von Langtrieben entnommen werden konnten.

Die den Langtrieben entnommenen Triebspitzen und Stecklinge waren zu einem höheren Anteil virusfrei als die den kurzen Trieben entnommenen (vgl. Tab. 20 und 21). Ein direkter inhibitorischer Einfluß der applizierten Gibberellinsäure auf die Viren konnte nicht festgestellt werden. Die den Langtrieben unbehandelter Pflanzen entnommenen Triebspitzen oder Stecklinge waren zum gleichen Anteil virusfrei als die den Langtrieben GA 3-behandelter Pflanzen entnommen. CATARA, GRASSO und PERROTTA (1969) konnten in Untersuchungen mit verschiedenen Viruskrankheiten an Citrus feststellen, daß die exogene Gibberellinsäure keinen Einfluß im Sinne einer viriziden oder virostatistischen Wirkung erkennen läßt. Zwar konnten die Symptome der verschiedenen Viren durch GA 3 gemildert werden, Triebverkürzungen und Stauungen wurden weitgehend nach der Applikation aufgehoben, die den symptomlosen Pflanzen entnommenen Triebstücke, Knospen

und Gewebestücke erwiesen sich jedoch im Test als viruskrank. Auch wenn die Pflanzen einer 40tägigen Wärmebehandlung bei 38°C ausgesetzt wurden, konnte der Anteil der virusfrei isolierten Knospen durch Gibberellin nicht erhöht werden. Daß die Gibberellinsäure keinen direkten Einfluß auf die Viren ausübt, konnte auch in Untersuchungen von CHANT et al. (1963), GOLDIN und LAPIDUS (1960), HULL und KLOS (1962), LAL und SINGH (1961) sowie MARAMOROSCH (1957) festgestellt werden.

BAILIS (1968) gelang der Nachweis an Aspermie-kranken Tomatenpflanzen (tomato aspermy virus), daß durch Applikation von Gibberellinsäure der natürliche Gibberellinsäuregehalt der Blätter und Stengel in kranken und gesunden Pflanzen nicht verändert wird. Auch die Virusinfektion übt keinen Einfluß auf den natürlichen Gibberellinsäuregehalt der Pflanze aus. Unter den Bedingungen der Wärmekabine ist es vorstellbar, daß die applizierte GA 3 eine stimulierende Wirkung auf die Stoffwechselaktivität der Pflanze ausübt. Anscheinend hat sie nicht nur eine induktive Wirkung, denn es konnte nachgewiesen werden, daß eine einmalige Applikation nur eine geringfügige Wirkung auf die Neutriebbildung hatte, während vier Applikationen, im Abstand von je 5 Tagen, den Zuwachs wesentlich beschleunigten.

Die positive Wirkung der exogenen Gibberellinsäure dürfte darin bestehen, daß sie einen raschen Austrieb der Knospen induziert und die wachsenden Triebe höhere Zuwachsraten und Wuchsaktivitäten aufweisen. Bedingt durch die hohen Temperaturen "hinken" die Viren weit zurück und sind nicht in der Lage, den sehr rasch wachsenden Neutrieb zu durchdringen. Es ist andererseits aber auch denkbar, daß ähnlich wie in Meristemen oder meristematischen Geweben, in denen hohe Wuchsaktivitäten vorliegen, und die weitgehend virusfrei, zumindest aber virusarm sind, auch in gibberellinbehandelten Trieben die meristematischen Wuchsaktivitäten so groß sind, daß das Virus in diesen Trieben nicht Fuß fassen kann. Die dichte Nodienfolge im oberen Teil GA 3-behandelter Triebe, die auf hohe Zellteilungsaktivitäten schließen läßt, gibt dafür einen Hinweis.

Interessant erscheint es in diesem Zusammenhang auch, andere Gibberelline auf ihre wachstumsfördernde Aktivität im Zusammenhang mit der Thermotherapie zu prüfen. So ist bekannt, daß die Gibberelline A4, A7 und A9 eine wesentlich stärkere Wirkung auf die Fruchtbildung und die Induktion parthenokarper Früchte des Steinobstes aufweisen als A3, A5 und A8. Es kann damit gerechnet werden, daß andere Gibberelline, deren technische Herstellung allerdings noch zu teuer ist, eine noch günstigere Wirkung auf das vegetative Wachstum von Steinobstpflanzen ausüben (JACKSON, 1968 a+b).

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die virusfreien Zonen an den Neutrieben mehrere Zentimeter lang sein können. So war es möglich, gute Ergebnisse mit der Stecklingsmethode zu erzielen, wenn die Stecklinge Langtrieben entnommen wurden, wobei wir in dieser Arbeit unter Langtrieben solche über 20 cm verstehen. Nach einer 60tägigen Wärmebehandlung erwiesen sich die meisten der von NRV- und CRV-kranken Pflanzen geernteten Stecklinge als virusfrei. Für das ToSRV kann eine Behandlungslänge von 80 Tagen empfohlen werden. Lediglich beim RRV konnte mit der Stecklingsmethode nur eine geringe Ausbeute an virusfreien Individuen erzielt werden. Die Gründe dafür dürften darin zu suchen sein, daß die mit diesem Virus infizierten Pflanzen doch nicht die Triebblängen wie die mit dem NRV- und CRV-infizierten Pflanzen erreichen, und daß andererseits das RRV auch bei Temperaturen von 38°C ein besseres Durchdringungsvermögen des Neuzuwachses besitzt. Bei diesem Virus ist es sinnvoller, wenn auf kleinere Sproßteile zurückgegriffen wird. Kleine Triebspitzen erwiesen sich sehr viel häufiger als gesund.

Wie aus den Untersuchungen hervorgeht, wirken sich Behandlungslängen über 60 Tage hinaus negativ auf die Virusfreiheit der geernteten Triebteile aus. Die nach 80 Tagen entnommenen Triebteile NRV-, CRV- und RRV-kranker Pflanzen waren zu einem sehr viel höheren Anteil viruskrank als die nach 40 bis 60 Tagen geernteten. Daraus kann geschlossen werden, daß das Virus doch noch ein gewisses Ausbreitungsvermögen besitzt und den Neutrieb

langsam durchdringen kann. In Kurztrieben wird dies natürlich sehr viel schneller erfolgen als in Langtrieben. Lediglich das ToSRV macht hier eine Ausnahme, bei diesem Virus waren längere Behandlungszeiträume nötig. Möglicherweise ist dieses Virus hitzelabiler als die anderen untersuchten Viren, so daß es zu einer echten Virusinaktivierung kommt. Da in der Zeit vom 40. bis 60. Behandlungstag kein wesentlicher Triebzuwachs mehr zu verzeichnen ist, sich der Anteil virusfreier Sproßteile bei längerer Behandlungszeit aber erhöht, darf dies angenommen werden. GALZY (1966, 1969) konnte in Versuchen mit reissigkranken Reben, einer Viruskrankheit, die durch das Zusammenwirken des Arabis-Mosaikvirus und des ToSRV verursacht wird, nachweisen, daß eine Viruskomponente, möglicherweise das ToSRV hitzelabiler ist und leichter zu inaktivieren war als die andere Komponente, bei der es sich höchstwahrscheinlich um das Arabis-Mosaikvirus handelte.

Für die übrigen drei Viren ist anzunehmen, daß die direkte Virusinaktivierung eine geringere Bedeutung hat als das Nichtvermögen, den Neuzuwachs zu durchdringen. Es erscheint daher sinnvoller, in diesen Fällen nicht von einer Virusinaktivierung, sondern von einer Viruseliminierung zu sprechen. Eine echte Virusinaktivierung hätte vorausgesetzt werden können, wenn wir bei der Warmwasserbehandlung kranker Pfropfreiser (Kurzzeittherapie) Erfolg gehabt hätten. Auch virusfreie Knospen, die wir teilweise von CRV-kranken Pflanzen, die während der physiologischen Ruheperiode der Wärmebehandlung unterzogen wurden, isolieren konnten, setzen eine Inaktivierung in diesen voraus. Sehr viel komplexer scheinen aber die Verhältnisse dann zu sein, wenn die Pflanzen während der Wärmebehandlung Neuaustriebe bilden. Neben Inaktivierungsvorgängen dürften eine verminderte Virussynthese und ein gehemmter Virustransport die Gründe für die Erzielung virusfreier Triebteile sein.

Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse dürften auch für die Praxis ihre Bedeutung haben. So konnten wir Verfahren aufzeigen, die es ermöglichen, bei den vier untersuchten Virus-

krankheiten, insbesondere aber bei den Kirschvirosen, die Thermotherapie erfolgreich anzuwenden. Auf diese Weise kann auch bei solchen Sorten bzw. Klonen, die vollkommen virusverseucht sind, virusfreies Material gewonnen werden.

Abschließend soll der Weg, der heute bei der Erzeugung virusfreier Obstgehölze gegangen werden kann, durch folgendes Schema veranschaulicht werden:



Abb. 18: Gewinnung virusfreier Obstgehölze
(modifiziert nach CAMPBELL, 1970).

Sofern sich eine Pflanze anhand ihrer Symptome oder vorausgegangener Tests als viruskrank erwiesen hat, und die wirtschaftliche Bedeutung der Sorte oder des Klones eine Wärmebehandlung rechtfertigt, kann sie dieser Behandlung mit dem Ziel, virusfreie Nachfolgepflanzen zu gewinnen, unterzogen werden. Nach der Wärmebehandlung werden der Pflanze kleine Sproßteile ent-

nommen, die als Meristeme, Triebspitzen oder Stecklinge vegetativ vermehrt werden. Die aus diesen Teilen gewonnenen Pflanzen werden nun in mehreren Bio- oder serologischen Tests auf die entsprechenden Virosen geprüft. Wird das Virus nach diesen Tests nicht mehr nachgewiesen, so kann die Pflanze als virusfrei betrachtet und in einem Muttergarten zur weiteren Vermehrung aufgepflanzt werden. Unter praktischen Bedingungen dürfte ein solcher Zyklus etwa 5 Jahre beanspruchen. Auch nach dem Aufpflanzen des geheilten Klons in einen Muttergarten unterliegt er einer ständigen Kontrolle, da eine erneute Infektion unter Freilandbedingungen stets möglich ist.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen zur Thermotherapie verschiedener Steinobstvirosen (Nekrotische Ringfleckkrankheit der Kirsche, verursacht durch das Nekrotische Ringfleckenvirus der Kirsche - NRV; Chlorotische Ringfleckkrankheit der Kirsche, verursacht durch das Chlorotische Ringfleckenvirus der Kirsche - CRV; Pfeffinger Krankheit der Kirsche, verursacht durch das Himbeerringfleckenvirus - RRV; Triebstauchung des Pfirsichs, verursacht durch das Tomatenschwarzringfleckenvirus - ToSRV) führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Vollständige Pflanzen mit Sproß- und Wurzelsystem können durch eine Wärmebehandlung nicht geheilt werden.
2. Einzelne Sproßteile können mit Hilfe der Thermotherapie virusfrei gewonnen werden. Problematisch ist aber ihre Weiterkultur, da es sich um sehr kleine Sproßteile handelt. Sofern längere Neuaustriebe zustandekommen, können diesen Stecklinge oder kleinere Triebspitzen entnommen werden. Stecklinge wurden in einer Sprühnebel-Vermehrungsanlage unter Anwendung von Wuchsstoffen zur Wurzelbildung veranlaßt, während kleinere Triebspitzen durch die Methode der Grünpfropfung vermehrt werden konnten. Auch Versuche zur Meristem- und Triebspitzenkultur in vitro wurden durchgeführt, wobei vor allem einige Phytohormone in verschiedenen Konzentrationen und Kombinationen erprobt wurden. Wenn auch eine Bewurzelung auf diesen Medien nicht gelang, war es doch möglich, isolierte Meristeme, insbesondere solche mit Blattprimordien, soweit zu vergrößern, daß sie der Grünpfropfung zugänglich wurden.
3. Durch eine Warmwasserbehandlung viruskranker Pfropfreiser (Kurzzeittherapie) kam es zu keiner vollständigen Inaktivierung der Viren. Lediglich eine Virushemmung konnte beobachtet werden. Pfropfreiser der Kirsche wurden durch kurzzeitige Behandlungen bei Temperaturen von 50°C und darüber

so stark geschädigt, daß sie nach der Pfropfung nicht anwuchsen. Temperaturen zwischen 40 und 50°C bei unterschiedlicher Behandlungsdauer waren für eine vollständige Inaktivierung des NRV bzw. CRV nicht ausreichend.

4. Gute Ergebnisse wurden dagegen erzielt, wenn kranke Steinobstpflanzen einer mehrwöchigen Behandlung in einer Wärmekabine bei 38°C unterzogen wurden (Langzeittherapie).
5. Die Temperatur übt einen starken Einfluß auf die Mobilität der Viren aus. Die Transport- und Ausbreitungsgeschwindigkeit des NRV in basal- und terminal infizierten Bäumen war stark herabgesetzt, wenn die Bäume in der Wärmekabine bei 38°C aufgestellt wurden. Während im 18- und 28°C-Bereich die Virusdurchdringung der Bäume, insbesondere bei terminaler Inokulation, sehr rasch vonstatten ging, war diese im 38°C-Bereich sehr gering; nach 12wöchiger Kultur unter diesen Bedingungen konnte das Virus nur noch selten nachgewiesen werden.

In einem weiteren Versuch wurde erkennbar, daß die Temperatur auch einen starken Einfluß auf die Virusübertragung ausübt. Unter den Bedingungen der Wärmekabine ist die erforderliche Kontaktzeit zwischen viruskrankem Donator und der zu infizierenden Pflanze, dem Rezeptor, sehr viel länger als unter normalen Gewächshausbedingungen.

6. Die Wärmetoleranz verschiedener Sorten/Unterlagen-Kombinationen ist unterschiedlich ausgeprägt. Sehr wärmetolerant erwiesen sich gepfropfte Bäume auf der Unterlage Prunus mahaleb, weniger wärmeverträglich sind solche auf Prunus avium F 12/I und Prunus avium Slg. Auch Prunus persica zeigte eine ausreichende Wärmeverträglichkeit. Eine 20tägige Adaptationszeit an die Bedingungen der Wärmekabine war notwendig.
7. Starke Neutriebbildung während der Wärmebehandlung erhöht die Chance, virusfreie Triebteile zu gewinnen. Rasches Austreiben der Knospen und Bildung langer Triebe sind deshalb wünschenswert. Verschiedene Faktoren beeinflussen den Neuaus-

trieb. Ein starker Rückschnitt der zu behandelnden Pflanzen fördert die Neutriebbildung. Unterlagen- und Sorteneinflüsse waren erkennbar. Die Virusinfektion erwies sich als stärkster negativer Faktor für die Neutriebbildung. Während NRV und CRV die vegetative Leistung der Bäume nur geringfügig beeinflussen, wirken sich RRV und ToSRV außerordentlich stark auf die Neutriebbildung der Bäume aus. Die mit den beiden letztgenannten Viren infizierten Pflanzen bilden in der Regel nur Blattrosetten bzw. sehr kurze Austriebe, die sich nicht für eine vegetative Weitervermehrung eignen. Negativ für Triebbildung und Wuchsfreudigkeit erwiesen sich weiterhin lange Stämme. Kurze Stämme, möglichst knapp über dem Wurzelhals gepfropft, fördern die Wuchsleistung.

Phytohormone, über das Blatt appliziert, förderten Austriebsbeginn und Trieblänge. Gibberellinsäure (GA 3) erwies sich als besonders wirkungsvoll, wenn sie während der Adaptationszeit appliziert wurde. Konzentrations- und Sortenunterschiede waren erkennbar. Die virusbedingten Wuchsdepressionen, besonders die durch das RRV und ToSRV hervorgerufenen, konnten weitgehend aufgehoben werden. Mit Hilfe der applizierten GA 3 gelang es, auch von diesen Pflanzen virusfreie Sproßteile zu isolieren. Neben gesteigertem Triebzuwachs bestand die Wirkung der GA 3 auch in der Brechung der Apikaldominanz, so daß von einer Pflanze mehr Material für eine Weitervermehrung geerntet werden konnte.

8. Von allen vier untersuchten Viruskrankheiten konnten nach der Behandlung in einer Wärmekabine (Langzeittherapie) virusfreie Sproßteile gewonnen werden.

Isolierte Knospen, auf virusfreie Unterlagen okuliert, erwiesen sich selten als virusfrei. Lediglich beim CRV gelang es nach einer 60tägigen Wärmebehandlung, einzelne gesunde Knospen von neugebildeten Trieben zu isolieren. Knospen von Neutrieben, die sich unter den Bedingungen der Wärmekabine entwickelten, waren nur mangelhaft ausgebildet und wuchsen deshalb nach der Okulation nur selten an.

Die Entnahme von Stecklingen und deren anschließende Bewurzelung erwies sich für das NRV, CRV und ToSRV als sehr brauchbare Methode. Lediglich beim RRV muß auf kleinere Sproßteile zurückgegriffen werden. Einen hohen Anteil virusfreier Stecklinge erzielten wir dann, wenn diese Langtrieben (über 20 cm Länge) entnommen wurden. 60tägige Behandlungslängen erwiesen sich für die Eliminierung von NRV und CRV, 80tägige für die des ToSRV am geeignetsten.

Die Pfropfung wachsender Triebspitzen (Grünpfropfung) bildet die aussichtsreichste Methode zur Gewinnung virusfreier Sproßteile. Bei allen vier untersuchten Viren konnten mit ihrer Hilfe sehr gute Ergebnisse erzielt werden. Ähnlich wie bei der Stecklingsmethode waren auch hier Triebspitzen von Langtrieben häufiger virusfrei als solche, die kurzen Trieben entnommen wurden. Eine 60tägige Behandlungsdauer erwies sich für NRV, CRV und RRV als vorteilhaft. Bei längerer Behandlung verringert sich der Anteil virusfreier Triebspitzen. Lediglich für die Eliminierung des ToSRV ist eine längere, ca. 80 Tage währende Behandlung günstiger.

Die Triebspitzenkultur in vitro stellt eine Möglichkeit dar, auf allerkleinste Sproßteile zurückzugreifen. An Steinobstpflanzen konnte mit ihr erfolgreich gearbeitet werden. Zur Eliminierung der vier von uns untersuchten Viren eigneten sich zwar die vorgenannten, einfacheren Methoden besser, grundsätzlich ist es jedoch möglich, 3-5 mm lange Triebspitzen in 12wöchiger in vitro-Kultur auf etwa 20 mm zu vergrößern und nachfolgend auf gesunde Unterlagen zu pflanzen.

Erfolglos verliefen Versuche, Pflanzen während der physiologischen Ruheperiode einer Wärmebehandlung zu unterziehen. Selbst nach 100tägiger Behandlungsdauer konnten nur einzelne CRV-freie Knospen isoliert werden. Für das NRV, RRV und ToSRV erwies sich dieses Verfahren als völlig ungeeignet.

8. SCHRIFTENVERZEICHNIS

- ANONYM, 1967: Richtlinien für die Anzucht virusgetesteter Obstgehölze. NachrBl. dt. PflSchutzdienst, Braunschweig 19: 66-74
- ALBRECHT, H.J., 1966: Anwendung von Wuchsstoffen bei der Stecklingsvermehrung von Ziergehölzen. Der Dtsch. Gartenbau 13: 207-209
- ALLEN, W.R., 1963: Comparison of strains of Prunus necrotic ringspot and prune dwarf viruses with viruses of the Pfeffinger- (rasp leaf) type. Phytopathology 53: 1436-1442
- ALLEN, W.R., 1964: Serological and physiological comparisons between viruses of the Prunus necrotic ringspot and Pfeffinger- (rasp leaf) types. Phytopathology 54: 455-459
- ARNEY, S.E., MANCINELLI, P., 1966: The basic action of gibberellic acid in elongation of "Meteor" pea stems. New Phytol. 65: 161-175
- BACHELARD, E.P., 1969: Effect of gibberellic acid as internode growth and starch contents of Eucalyptus seedlings. New Phytol. 68: 1017-1022
- BAILISS, K.W., 1968: Gibberellins and the early disease syndrome of aspermy virus in Tomato (Lycopersicon esculentum Mill.). Ann. Bot. 32: 543-551
- BAKER, R., PHILIPPS, D.J., 1962: Obtaining pathogen-free stock by shoot tip culture. Phytopathology 52: 1242-1244
- BARTHOLOMAY, G., 1963: Erfahrungen mit dem Sprühverfahren bei der Stecklingsvermehrung. Obstbau 3: 92-93
- BASAK, W., 1967: Influence of gibberellin on bud differentiation of sour cherry affected by yellows virus disease. Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych 70: 189-194
- BAUMANN, G., 1959 a: Die Verbreitung der Stecklenberger Krankheit der Sauerkirsche und der Ringfleckenkrankheit der Süßkirsche in Obstanlagen und Baumschulen. NachrBl. dt. PflSchutzdienst, Berlin 13 (39): 173-177
- BAUMANN, G., 1959 b: Zur Frage der Identität europäischer Kirschenvirosen. Mitt. biol. BundAnst.Ld- u. Forstw. (Berlin-Dahlem) 97: 81-85

- BAUMANN, G., 1962: Der Virustest bei Steinobstgehölzen im Gewächshaus. *Phytopath. Z.* 44: 254-262
- BAUMANN, G., 1968: Steinobstvirosen an Ziergehölzen der Gattung *Prunus*. Tagungsber. Dt. Akad. Landwirtschaftl. Wiss. Berlin, Nr. 97, 211-220
- BAUMANN, G., KLINKOWSKI, M., 1955: Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes. *Phytopath. Z.* 25: 55-71
- BAWDEN, F.C., 1964: Plant viruses and virus diseases. Ronald Press, New York
- BAWDEN, F.C., 1966: Some reflections on thirty years of research on plant viruses. *Ann. appl. Biol.* 58: 1-11
- BELKENGREN, R.O., MILLER, P.W., 1962: Culture of apical meristems of *Fragaria vesca* strawberry plants as a method of excluding latent A virus. *Pl. Dis. Reptr.* 46: 119-121
- BERCKS, R., MISCHKE, W. 1963/64: Untersuchungen über die Gewinnung von partiell gereinigtem raspberry ringspot virus aus Blättern von Süßkirschen zu verschiedenen Jahreszeiten. *Phytopath. Z.* 49: 96-101
- BERCKS, R., MISCHKE, W., 1964: Nachweis des Tomatenschwarzringfleckenvirus (tomato blackring virus) in Blättern einer Süßkirsche (*Prunus avium*). *Phytopath. Z.* 51: 437-441
- BLOMMAERT, K.L.J., HURTER, N., 1959: Growth response of Physiologic dwarf seedlings of peach, apricot and plum to gibberellic acid. *S. Afr. J. agric. Sci.* 2: 409-411
- BLUMER, S., GEERING, J., 1950: Das Kirschbaumsterben im Basel-land (Pfeffinger Krankheit). *Phytopath. Z.* 16: 300-335
- BOEK, K., 1954: Was lehrt uns die Pfeffingerkrankheit über die Behandlung der Virusfrage im Obstbau? *Mitt. OVR Altes Land* 2: 349-353
- BOEK, K., 1956 a: Untersuchungen über Viruskrankheiten der Süßkirsche. *Mitt. OVR Altes Land* 11: 153-159
- BOEK, K., 1956 b: Untersuchungen über Viruskrankheiten der Süßkirsche (*Prunus avium* L.) im niederelbischen Obstbaugebiet. *Diss. Hamburg, Math.-Naturwiss. Fak.*
- BOLTON, A.T., TURNER, L.H., 1962: Note on obtaining virus-free plants of red raspberry through the use of tip cuttings. *Can. J. Pl. Sci.* 42: 210-214

- BOLWYN, B., HELTON, A.W., 1964: Migration patterns of a mild and a severe strain of *Prunus* ringspot virus in newly inoculated "Bing" cherry trees. *Phytopathology* 54: 1335-1338
- BOXUS, R., 1970: Mündliche Mitteilung, Tagung "La thermotherapie des especes ligneuse", Gembloux/Belgien 11.-12. März 1970
- BRADLEY, M.V., CRANE, J.C., 1960: Gibberellic acid induced inhibition of bud development in some species of *Prunus*. *Science* 131: 825-826
- BRIAN, P.W., PETTY, J., RICHMOND, P.T., 1959: Extended dormancy of deciduous woody plants treated in autumn with gibberellic acid. *Nature Lond.* 184: 69
- BRIERLEY, P., 1962: Easter lilies freed from cucumber mosaic virus by scale propagation. *Pl. Dis. Repr.* 46: 627
- CAMPBELL, A.I., 1961: Techniques used in the inactivation of some apple viruses. *Rep. Long Ashton Res. Stn. for 1960*: 73-78
- CAMPBELL, A.I., 1962: Apple virus inactivation by heat therapy and tip propagation. *Nature Lond.* 195: 520
- CAMPBELL, A.I., 1965: The growth of young pear trees after elimination of some viruses by heat treatment. *Rep. Long Ashton Res. Stn. for 1964*: 111-116
- CAMPBELL, A.I., 1968: Heat sensitivity of some apple viruses. *Tagungsber. Dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin*, Nr. 97: 311-316
- CAMPBELL, A.I., 1970: Mündliche Mitteilung, Tagung "La thermotherapie des especes ligneuse". Gembloux/Belgien 11.-12. März 1970
- CAMPBELL, A.I., BEST, M.W., 1963: The effect of heat therapy on several apple viruses. *Rep. Long Ashton Res. Stn. for 1962*: 56-70
- CARLONE, R., 1959: Influenza delle gibberelline sullo sviluppo dei germogli e dei frutti di alcune cultivar di pesco. *Frutticoltura* 21: 353-363
- CASALICCIO, G., 1964: Applicazione della termoterapia nel risanamento delle piante di fico affette da mosaico. *Phytopathol. Mediterranea* 3: 184-185
- CATARA, A., GRASSO, S., PERROTTA, G., 1969: Influence of gibberellins on virus-host plant reactions in citrus virosis, and attempts to the therm in conjunction with heat treatment to obtain "exocortis"-free material. *Atti del XVIII Convegno delle S.I.F., Napoli*, 26.-28. Settembre 1968, 93-109

- CATION, D., 1952: Further studies on transmission of ringspot and cherry yellows viruses through seeds. *Phytopathology* 42: 4
- CAUDWELL, A., 1966: L'inhibition in vivo du virus de la flavescente dorée par la chaleur. *Ann. Epiphyties Suppl.* 17: 61-66
- CHAMBERLAIN, A.A., ATKINSON, J.D., HUNTER, J.A., 1957: Occurrence of peach calico in New Zealand. *N. Z. Jl. Sci. Technol.* 38: 813-819
- CHAMBERS, J., 1954: Heat therapy of virus-infected raspberries. *Nature Lond.* 173: 595-596
- CHAMBERS, J., 1961: The production and maintenance of virus-free raspberry plants. *J. hort. Sci.* 36: 48-54
- CHANT, S.R., KIMMINS, W., STEVENS, W., WRIGLEY, T.C., 1963: The effect of gibberellic acid on virus infections of *Phaseolus vulgaris* L. *Phyton*, B. Aires, 20: 105-144
- CHAPPELL, J.E., MAUNEY, J.R., 1967: Culture of the apical meristems of *Gossypium hirsutum* in vitro. *Phyton*, B. Aires 24: 93-100
- CHRISTOFF, A., 1958: Die Obstvirosen in Bulgarien. *Phytopath. Z.* 31: 381-436
- COCHRAN, L.C., 1946: Passage of the ringspot virus through mazzard cherry seeds. *Science* 104: 269-270
- COHRS, E.S., 1966: SPS, ein biologisches Pflanzenkonzentrat zur Schnellbewurzelung von Stecklingen und Steckholz bei gleichzeitiger Pilzvorbeugung. *Dtsch. Baum-schule* 18: 46-48
- CONVERSE, R.H., 1963: Influence of heat-labile components of the raspberry mosaic virus complex on growth and yield of red raspberries. *Phytopathology* 53: 1251-1254
- CROPLEY, R., 1961: Viruses causing raspleaf and similar diseases of sweet cherry. *Ann. appl. Biol.* 49: 530-534
- CROPLEY, R., 1964: Further studies on european rasp-leaf and leaf-roll diseases of cherry trees. *Ann. appl. Biol.* 53: 333-334
- CROPLEY, R., GILMER, R.M., POSNETTE, A.F., 1964: Necrotic ring-spot and prune dwarf viruses in *Prunus* and in herbaceous indicators. *Ann. appl. Biol.* 53: 325-332

- DESJARDINS, P.R., 1957: The suppression of tristeza virus symptoms in mexican lime seedlings by heat treatment. Pl. Dis. Reprtr. 41: 230-231
- DIJKSTRA, J., RENSEN, J.J.S. van, 1968: Effect of 6-azauracil on infection with tobacco mosaic virus. Neth. J. Pl. Path. 74: 193-201
- EHLERS, C.G., 1957: Separation and indification of viruses that incite diseases of stone fruit. Diss. Abstr. 17: 1889-1880
- ELLENBERGER, C.E., 1960: Heat inactivation of some viruses in plum varieties and rootstocks. Rep. E. Malling Res. Stn, for 1959, 43: 99-101
- FEUCHT, W., 1970: Zur Kallusbildung aus Kambiumgewebe der Sauerkirsche. Mitt. Klosterneuburg 20: 314-318
- FISCHER, M., 1969: Verklonung von Unterlagen-Zuchtmaterial von Malus, Pirus und Prunus mahaleb durch Grünstecklinge unter Sprühnebel. Arch. Gartenb. 17: 15-33
- FRIDLUND, P.R., 1967 a: The relationship of inoculum-receptor contact period to the rate of graft transmission of twelfe prunus viruses. Phytopathology 57: 1296-1299
- FRIDLUND, P.R., 1967 b: Effects of time and temperature on rate of graft transmission of the prunus ringspot virus, Phytopathology 57: 230-232
- FRIDLUND, P.R., 1968: Effect of high temperature on graft transmission of prunus ringspot virus. Phytopathology 58: 1192-1194
- FRITZSCHE, R., 1970: Beiträge zum Übertragungsmechanismus pflanzenpathogener Viren durch Nematoden. Ber. 9. Intern. Symp. Nematologie (Warschau, August 1967) 293-300
- FULTON, R.W., 1957: Properties of certain mechanically transmitted viruses of Prunus. Phytopathology 47: 683-687
- FULTON, R.W., 1958: Identity and relationships among certain sour cherry viruses mechanically transmitted to Prunus-species. Virology 6: 499-511
- FULTON, R.W., 1968 a: Serology of viruses causing cherry necrotic ringspot, plum line pattern, rose mosaic and apple mosaic. Phytopathology 58: 635-638

- FULTON, R.W., 1968 b: Relationships among the ringspot viruses of Prunus. Tagungsber. Dt. Akad. Landwirtsch. Wiss. Berlin, Nr. 97: 123-130
- GALZY, R., 1963: Heat treatment of several vine varieties. Progrès agric. vitic. 160: 225-297
- GALZY, R., 1966: Action de la temperature 35°C sur Vitis rupestris atteint de court-noué. Bull. Soc. Franc. ~~Physiol.~~ Vegetale 12: 391-399
- GALZY, R., 1969: Remerques sur la croissance de Vitis rupestris cultivée in vitro sur differents milieux nutritifs. Vitis 8: 191-205
- GARNER, R.J., 1951: The grafting of very young apple seedlings. Rep. E. Malling Res. Stn. for 1950: 71-75
- GEARD, I.D., 1958: The role of therapy in the control of plant diseases. J. Aus. Inst. agr. Sci. 24: 312-318
- GEORGE, J.A., DAVIDSON, T.R., 1963: Pollen transmission of necrotic ringspot and sour cherry yellows viruses from tree to tree. Can. J. Pl. Sci. 43: 276-288
- GEORGE, J.A., DAVIDSON, T.R., 1964: Further evidence of pollen transmission of necrotic ringspot virus in sour cherry. Can. J. Pl. Sci. 44: 383-384
- GIANOTTI, J., MORVAN, G., VAGO, C., 1968: Microorganismes de type mycoplasme dans les cellules liberiennes de Malus sylvestris L atteint de la maladie des proliférations. C. r. Acad. Sci. (Paris) 267 (Ser. D): 76-77
- GIFFORD, E.N., HEWITT, W.B., 1961: The use of heat therapy and in vitro shoot tip culture to eliminate fanleaf virus from the grapvine. Am. J. Enol. Vitic. 12: 129-130
- GOHEEN, A.C., 1969: zit. in NYLAND, G. und GOHEEN, A.C.: Heat therapy of virus diseases of perennial plants. Ann. Rev. Phytopath. 7: 331-354
- GOHEEN, A.C., LUHN, C.F., HEWITT, W.B.: Inactivation of grapvine viruses in vitro. Proc. Intern. Conf. Virus Vector Perennial Hosts, Davis, Calif., 255-265
- GOLDIN, M.I., LAPIDUS, N.G., 1960: The effect of gibberellin on tobacco mosaic virus. Bull. Acad. Sci. U.R.S.S. 25: 129-131, ref. in Rev. appl. Mycol. 39: 500
- GRANT, T.J., 1957: Effect of heat treatments on tristeza and psorosis viruses in Citrus. Pl. Dis. Repr. 41: 232-234

- GRANT, T.J., JONES, J.W., NORMANN, G.G., 1960: Present status of heat treatment of citrus viruses. Proc. Fla. St. hort. Soc. 1959, 72: 45-48
- GUALACCINI, F., 1960: Heat inactivation trials on cherry line pattern virus. Boll. Staz. Pat. veg. Roma, 18:31
- GUENGERICH, H.W., MILLIKAN, D.F., 1964: Heat therapy as a method for obtaining virus-free clones of apples. Pl. Dis. Reprtr. 48, 343-346
- HAKKAART, R.A., QUAK, F., 1964: Effect of heat treatment of young plants on freeing Chrysanthemum from virus B by means of meristem culture. Neth.J.Pl.Path.70:154-157
- HARRISON, B.D., 1958: Further studies on raspberry ringspot and tomato black ring, soil-borne viruses that affect raspberry. Ann. appl. Biol. 46: 571-584
- HARRISON, B.D., 1964: Specific nematode vectors for serologically distinctive forms of raspberry ringspot and tomato black ring virus. Virology 22: 544-550
- HARTMANN, H.T., LORETTI, F., 1965: Seasonal variation in rooting leafy olive cuttings under mist. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 87: 194-198
- HASSID, W.Z., 1967: Transformation of sugars in plants. A. Rev. Pl. Phys. 18: 253-280
- HEFT, L., 1964: Stand und Entwicklung der Sprühnebelvermehrung in den Baumschulen. Dtsch. Baumschule 16: 101-105
- HEWITT, W.B., 1962: zit. in MARTELLI, G.R., 1966: Thermotherapie delle virosi. L'Italia Agricola 103: 1-16
- HEWITT, W.B., 1964: zit. in MARTELLI, G.R., 1966: Thermotherapie delle virosi. L'Italia Agricola 103: 1-16
- HILDEBRAND, E.M., 1941: Rapid transmission of yellow-red virosis in peach. Contr. Boyce Thompson Inst. Pl. Res. 11: 485-496
- HILLMAN, J., 1970: The hormonal regulation of bud outgrowth in Phaseolus vulgaris. Planta (Berlin) 90: 222-229
- HIRTH, L., 1970: Mündliche Mitteilungen, Tagung "La thermotherapie des especes ligneuses" Gembloux, Belgien, 11.-12. März 1970
- HOLLINGS, M., 1962 a: Studies of pelargonium leaf curl virus 1. Host range, transmission and properties in vitro. Ann. appl. Biol. 50: 189-202

- HOLLINGS, M., 1962 b: Heat treatment in the production of virus-free ornamental plants. Natl. Agr. Advis. Serv. Quart. Rev. 57: 31-34
- HOLLINGS, M., 1965: Disease control through virusfree stock. A. Rev. Phytopath. 3: 367-396
- HOLLINGS, M., KASSANIS, B., 1957: The cure of Chrysanthemums from some viruses by heat. Jl. R. hort. Soc. 82: 339-342
- HOLLINGS, M., STONE, O.M., 1968: Techniques and problems in the production of virus-tested planting material. Scient. Hort. 20: 57-72
- HOLLINGS, M., STONE, O.M., 1970: Attempts to eliminate chrysanthemum stunt from chrysanthemum by meristem-tip culture after heat-treatment. Ann. appl. Biol. 65: 311-315
- HOLMES, F.O., 1948: Elimination of spotted wilt from a stock of dahlia. Phytopathology 38: 314
- HOLMES, F.O., 1955: Elimination of spotted wilt from dahlias by propagation of tip cuttings. Phytopathology 45: 224-226
- HOLMES, F.O., 1956: Elimination of aspermy virus from the Nightingale chrysanthemum. Phytopathology 46: 599-600
- HOLMES, F.O., 1967: Cures for virus diseases. Plants and Gardens 22: 28-31
- tenHOUTEN, J.G., QUAK, F., van der MEER, F.A., 1968: Heat treatment and meristem culture for the production of virusfree plant material. Neth. J. Pl. Path. 74: 17-24
- HULL, J., KLOS, E.J., 1962: Effect of gibberellin on virus infected "Montmorency" cherry trees. Proc. V. Europ. Symp. fruit tree virus diseases, Edizioni Agricole Bologna, 129-131
- HULL, J., LEWIS, L.N., 1959: Response of one-year-old cherry and mature bearing cherry, peach and apple trees to gibberellin. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 74: 93-100
- HUNTER, J.A., CHAMBERLAIN, E.E., ATKINSON, J.D., 1959: Note on a modification in technique for inactivating apple-mosaic virus in apple wood by heat treatment. N. Z. Jl. agr. Res. 2: 945-46
- HUTCHINS, L.M., RUE, J.L., 1939: Promising results of heat treatment for inactivation of phony disease virus in dormant peach nursery trees. Phytopathology 29: 12

- JACKSON, D.I., 1968 a: Gibberellin and growth in stone fruits: induction of parthenocarp in plum. Aust. J. biol. Sci. 21: 1103-1106
- JACKSON, D.I., 1968 b: Gibberellin and the growth of peach and apricot fruits. Aust. J. biol. Sci. 21: 209-215
- JANSEN, H., 1969: Wuchs- und Hemmstoffe im Gartenbau. Grundlagen und Fortschritte im Garten- und Weinbau, Heft 119, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart
- JONES, O.P., VINE, S.J., 1968: The culture of gooseberry shoot tips for eliminating virus. J. hort. Sci. 43: 289-292
- KASSANIS, B., 1957: The use of tissue culture to produce virus-free clones from infected potato varieties. Ann. appl. Biol. 45: 422-427
- KASSANIS, B., POSNETTE, A.F., 1961: Thermotherapy of virus infected plants. Recent Advan. Bot. 1: 557-563
- KEGLER, H., 1959: Untersuchungen über Virosen des Kernobstes. I. Das Apfelmosaikvirus. Phytopath. Z. 37: 170-186
- KEGLER, H., 1960: Zur Differenzierung von Kirschenviren. I. Die Viren der Pfeffinger-(Rosetten-) und der Stecklenberger Krankheit. Phytopath. Z. 38: 209-213
- KEGLER, H., 1964: Analyse und Bekämpfung der Virosen des Kern- und Steinobstes in der DDR. Habil.-Schrift Landw. Fak. Univ. Halle-Wittenberg
- KEGLER, H., 1965 a: Untersuchungen über Ringfleckkrankheiten der Kirsche, I. Mitt.: Symptomatologie. Phytopath. Z. 53: 174-189
- KEGLER, H., 1965 b: Untersuchungen über Ringfleckkrankheiten der Kirsche. II. Mitt.: Wirtspflanzen und physikalische Eigenschaften von Ringfleckviren. Phytopath. Z. 54: 305-327
- KEGLER, H., 1967: Eine einfache Apparatur zur Wärmebehandlung viruskranker Obstpflanzen. Arch. Gartenb. 15: 69-74
- KEGLER, H., 1968: Virosen an Obstgehölzen und Beerenobst, in: KLINKOWSKI, M.: Pflanzliche Virologie, Band II, Teil 1, Akademie-Verlag Berlin
- KEGLER, H., OPEL, H., 1963: Ein verbessertes Verfahren zum Nachweis von Ringfleckviren der Kirsche mit krautigen Testpflanzen. Albrecht-Thaer-Archiv 7: 237-244
- KEITT, G.W., CLAYTON, C.N., 1943: A destructive virus disease of sour cherry. Phytopathology 33: 449-468

- KEUR, J.Y., 1934: Studies of the occurrence and transmission of virus diseases in the genus *Abutilon*.
Bull. Torrey bot. Club 61: 53-70
- KIRKPATRICK, H.C., LINDNER, R.C., CHENEY, P.W., 1967: A selective host range for certain mechanically transmitted stone fruit viruses. Pl. Dis. Repr. 51: 786-790
- KIRKPATRICK, H.C., LINDNER, R.C., CHENEY, P.W., 1968: Symptomless infection of stone fruits with a mechanically transmissible virus from rose. Pl. Dis. Repr. 52: 499-502
- KLINKOWSKI, M., 1966: Forschungsergebnisse und Probleme der Phytopathologie. Sitzungsberichte Dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin, Band XV, H. 9
- KLINKOWSKI, M., 1967: Pflanzliche Virologie I. Akademie-Verlag Berlin
- KÖHLER, E., 1964: Allgemeine Viruspathologie der Pflanzen. P. Parey-Verlag, Berlin, Hamburg
- KUNKEL, L.O., 1935: Heat treatment for the cure of yellows and rosette of peach. Phytopathology 25: 24
- KUNKEL, L.O., 1936: Heat treatment of the cure of yellows and other virus diseases of peach. Phytopathology 26: 809-830
- KUNKEL, L.O., 1945: Studies on cranberry false blossom. Phytopathology 35: 805-821
- KUNZE, L., 1953: Die Pfeffinger-Kirschbaumkrankheit auch am Mittelrhein. Pflanzenschutz (München) 5: 4-7
- KUNZE, L., 1968: Virusübertragung durch Samen, Pollen, Wurzelkontakt. Mitt. biol. BundAnst. Id- u. Forstw. Berlin-Dahlem, H. 128, 56-64
- KUNZE, L., 1969: Der Einfluß der Stecklenberger Krankheit auf den Ertrag von Sauerkirschen. Erwerbsobstbau 11: 1-3
- KURAISHI, S., MUIR, R.M., 1963: Diffusible auxin increase in a rosette plant treated with gibberellin. Naturwissenschaften 50: 337-338
- LAL, S.B., SINGH, R.S., 1961: A note on stimulation of growth of leaf curl infected tomato plants with gibberellic acid. Sci. Cult. 27: 247-248; ref. in Rev. appl. Mycol. 41: 484
- LEBEURIER, G., HIRTH, L., 1966: Effect of elevated temperatures on the development of two strains of tobacco mosaic virus. Virology 29: 385-395

- LIMASETT, P., CORNUET, P., GENDRON, Y., 1949: Titrage du virus de la mosaïque du tabac (*Marmor tabaci* Holmes) dans les organes aériens de tabac infectées. C. R. Acad. Sci. 228: 1888-1890
- LIN, K.H., LO, H.H., 1965: A preliminary study on thermotherapy of yellow shoot disease of citrus. Acta phytopath. sin. 4: 169-175; ref. in Rev. appl. Mycol. 45: 1067
- LINSER, H., NEUMANN, K.H., 1968: Untersuchungen über Beziehungen zwischen Zellteilung und Morphogenese bei Gewebekulturen von *Daucus carota*. I. Rhizogenese und Ausbildung ganzer Pflanzen. Physiologia Pl. 21: 487-499
- LYTTLETON, J.W., MATTHEWS, R.E.F., 1958: Release of nucleic acid from turnip yellow mosaic virus (TYMV) under mild conditions. Virology 6: 460-477
- MAJORANA, G., 1966: Infezioni naturali di "variegatura infettiva" su mandarino (*Citrus reticulata* Blanco). Nota preventiva. Phytopath. Mediterranea 5: 185-187
- MAJORANA, G., MARTELLI, G., 1966: Tentativi di termoterapia di mandorli affetti da "mosaico". Phytopath. Mediterranea 5: 103-108
- MARAMOROSCH, K., 1957: Reversal of virus-caused stunting in plants by gibberellic acid. Science 126: 651-652
- MARENAUD, C., 1970: Mündliche Mitteilung, Tagung "La thermothérapie des especes ligneuses", Gembloux, Belgien, 11.-12. März 1970
- MARTELLI, G., CICCARONE, A., 1964: Heat therapy for virus diseases. Studies by the CNR Virus Research Group LXXIV. Frutticoltura 26: 613-620
- MATTHEWS, R.E.F., SMITH, J.D., 1955: The chemotherapy of viruses. Adv. Virus Res. 3: 49-148
- MCCLEAN, A.P.D., 1969: zit. nach NYLAND, G. und GOHEEN, A.C.: Heat therapy of virus diseases of perennial plants. A. Rev. Phytopath. 7: 331-354
- MCNEILL, M.M., 1963: Fruit tree rootstock propagation under mist in a glasshouse. Rep. E. Malling Res. Stn for 1962, 71-72
- MEYER, J., 1964: Die Anzucht von Obstunterlagen in der Nebelvermehrung. Schweiz. Z. Obst- u. Weinb. 73: 389-397
- MILLER, P.W., GARREN, R.E., 1966: Studies on the inactivation of strawberry viruses by chemotherapy. Pl. Dis. Reprtr. 50: 843-847

- MISCHKE, W., BERCKS, R., 1964: Weitere Untersuchungen über den Erreger einer virösen Triebstauchung des Pfirsichs und seine Identifizierung als Stamm des Tomatenschwarzringfleckenvirus (tomato black ring virus). *Phytopath. Z.* 49: 147-155
- MISCHKE, W., SCHUCH, K., 1962: Untersuchungen über eine viröse Triebstauchung des Pfirsichs. *Phytopath. Z.* 44: 76-88
- MOREL, G., 1964: Regeneration des varieties viroseees par la culture des meristemes apicaux. *Revue hort. (Paris)* 136: 733-740
- MOREL, G., MARTIN, C., 1952: Guérison de Dahlias atteints d'une maladie a virus. *C. R. Acad. Sci.* 235: 1324-1325
- MOREL, G., MARTIN, C., 1955: Guérison de pommes de terre atteintes de maladies a virus. *C. R. Acad. Sci.* 41: 472-475
- MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Pl.* 15: 473-497
- MURRAY, D.B., SWARBRICK, J.T., 1959: Heat treatment of cacao budwood with reference to cacao virus. *St. Augustine, Trinidad, Imp. Coll. Trop. Agr. Rept.* 1957-1968, 65
- NEMETH, M., 1965: Study and identification of ringspot viruses of stone fruit occurring in Hungary. *Proc. VI. Symp. Virus Diseases of fruit trees in Europe*, 1.-8.6. 1965, 441-457
- NEUMANN, K.H., 1968: Untersuchungen über Beziehungen zwischen Zellteilung und Morphogenese bei Pflanzenkulturen von *Daucus carota*. II. Respiration von Gewebekulturen in Abhängigkeit von der Zellteilungsintensität. *Physiologia Pl.* 21: 519-524
- NICHOLS, C.W., NYLAND, G., 1952: Hot water treatments of some stone fruit viruses. *Phytopathology* 42: 517-520
- NORRIS, D.O., 1953: Reconstitution of virus X-saturated potato varieties with malachitegreen. *Nature, Lond.* 172: 816
- NORRIS, D.O., 1954: Development of virus-free stock of green Mountain potato by treatment with malachitegreen. *Aus. J. agric. Res.* 5: 658-663
- NOURBACHSCH, M., 1968: Mündliche Mitteilungen, Inst. f. Obstbau, Univ. Giessen

- NYLAND, G., 1957: Heat inactivation of ringspot virus in some stone fruits hosts. *Phytopathology* 47: 530-532
- NYLAND, G., 1959: Hot-water treatment of Lambert-cherry budsticks infected with necrotic rusty mottle virus. *Phytopathology* 49: 157-158
- NYLAND, G., 1960: Heat inactivation of stone fruit ringspot virus. *Phytopathology* 50: 380-382
- NYLAND, G., 1964: Thermotherapy of virus infected fruit trees. *Proc. Europ. Symp. Fruit tree virus disease*, 5th, Bologna, 1962, 156-158
- NYLAND, G., GOHEEN, A.C., 1969: Heat therapy of virus diseases of perennial plants. *A. Rev. Phytopath.* 7: 331-354
- NYLAND, G., REEVES, E.L., 1962: Heat inactivation of the little cherry virus in trees of Shiro-fugen flowering cherry. *Meded. Landb. Hooges. Gent.* 27: 1060-64
- OLSON, E.O., ROGERS, B., 1969: Effects of temperature on expression and transmission of stubborn disease of citrus. *Pl. Dis. Reptr.* 53: 45-49
- OPEL, H., SCHMIDT, H., KEGLER, H., 1963/64: Anreicherung und Darstellung von Ringfleckenviren der Kirsche. *Phytopath. Z.* 49: 105-112
- OS, H. van, 1964: Production of virus-free carnations by means of meristem culture. *Neth. J. Pl. Path.* 70: 18-26
- PFAELTZER, H.J., 1959: Onderzoekingen over de rozetziekte van de kers. *Tijdschr. Planteziekten* 65: 5-12
- PINE, T.S., 1968: Effect of dimethyl sulfoxide on tobacco mosaic. *Pl. Dis. Reptr.* 52: 61-63
- PONT LEZICA, R.F., 1969: Effect of seven different gibberellins on stem elongation and flower formation in Rudbeckia bicolor Nutt grown under noninductive conditions. *Phyton, B.Aires* 26: 185-190
- POSNETTE, A.F., 1968: Development and present problems in fruit tree virus research. *Tagungsber. Dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin* Nr. 97, 19-26
- POSNETTE, A.F., CROPLEY, R., 1956: Apple mosaic virus. Host reactions and strain interference. *J. hort. Sci.* 31: 119-133
- POSNETTE, A.F., CROPLEY, R., WOLFSWINKEL, L.D., 1962: Heat inactivation of some apple and pear viruses. *Rep. E. Malling Res. Stn. for 1961*, 45: 94-96

- PRICE, W.C., 1940: Thermal inactivation rates of four plant viruses. Arch. ges. Virusforschung 1: 373-386
- PRICE, W.C., KNORR, L.C., 1956: Kinetics of thermal destruction of citrus tissues in relation to the virus disease problem. Phytopathology 46: 657-661
- QUAK, F., 1957: Meristeeamcultuur, gecombineerd met warmtebehandeling, voor het verkrijgen van virusvrije anjerplanten. Tijdschr. Planteziekten 63: 13-14
- QUAK, F., 1966: Meristeeamcultuur als middel ter verkrijging van virusvrije planten. Landbouwk. Tijdschr. 78 301-305
- RICHTER, J., KEGLER, H., 1967: Untersuchungen über Ringfleckkrankheiten der Kirsche. III. Serologische Untersuchungen. Phytopath. Z. 60: 262-272
- SEQUERA, O. A. de, 1966: Purification and serology of an apple mosaic virus. Virology 31: 314-322
- SIVORI, E., RUMI, C., 1960: Variacion del crecimiento en segmentos de peciolo de *Tropaeolum majus* provocado por la interaccion de ácido gliberélico y ácido indolacético. Phytom, B. Aires 15: 119-127
- RAYCHAUDHURI, S.P., GANGULY, B., BASU, A.N., 1965: Further studies on the mosaic disease of mulberry. Pl. Dis. Repr. 49: 981
- STONE, O.M., 1963: Factors affecting the growth of carnation plants from shoot apices. Ann. appl. Biol. 52: 199-209
- STRYDOM, K.D., HARTMANN, H.T., 1960: Effect of indolebutyric acid on respiration and nitrogen metabolism in Marianna 2624 plum softwood cuttings. Proc. Am. Soc. hort. Sci. 76: 124-133
- SUTIC, D., BLAGOJEVIĆ, M., 1964: Application of heat-therapy for the inactivation of Fig mosaic virus. Phytopath. Mediterranea 3: 32-34
- SWENSON, K.G., MILBRATH, J.A., 1964: Insect and mite transmission test with the Prunus ringspot virus. Phytopathology 54: 399-404
- SCHIMANSKI, H.-H., 1968: Der natürliche Befall von Samenspenderbäumen der Gattung *Prunus* mit Kirschenringfleckviren. Tagungsber. Dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin, Nr. 97, 227-234

- SCHIMANSKI, H.-H., FUNK, T., 1968: Untersuchungen über das Ausmaß der Übertragung von Kirschen-ringfleckenviren durch Samen der Vogelkirsche (Prunus avium L). Arch. Gartenb. 16: 143-150
- SCHIMMELPFENG, H., 1965: Vermehrung von Sauerkirschen durch Grünstecklinge. Erwerbsobstbau 7: 48-50
- SCHMELZER, K., 1960: The application of tissue cultures in plant virology. Act. microbiol. Acad. Sci. hung. 7: 176
- SCHMELZER, R., 1962/63: Untersuchungen an Viren der Zier- und Wildgehölze. 3. Mitt.: Virosen an Robinia, Caryopteris, Ptelea und anderen Gattungen. Phytopath. Z. 46: 235-268
- SCHÖNBERG, G., 1961: Anwendung des Sprühverfahrens zur Bewurzelung krautiger Stecklinge von Apfelunterlagen. Intensivobstbau 1: 67-70
- SCHÖNBERG, G., 1962: Über die Anwendung des Sprühverfahrens zur Gewinnung vegetativ vermehrter Unterlagen von Prunus mahaleb L. Diss. Landw.-Gärt. Fak. Humboldt-Univ. Berlin
- SCHÖNBERG, G., 1963: Gewinnung vegetativ vermehrter Unterlagen von Prunus mahaleb L. Bewurzelung von Stecklingen im Sprühverfahren. Obstbau 3: 90-92
- SCHÖNBERG, G., 1965: Einfluß verschiedener Bewurzelungsmethoden und Stecktermine auf die Wurzelbildung von Ziergehölzstecklingen unter besonderer Berücksichtigung des Sprühverfahrens. Arch. Gartenb. 13: 669-684
- SCHOSER, G., 1966: Pflanzenkultur mit dem Pflanzenstrahler OSRAM-L-"Fluora". Herausgeber: Osram G.m.b.H. Berlin-München
- SCHUCH, K.W., MISCHKE, W., KUNZE, L., 1967: Die Ausbreitung der Stecklenberger Krankheit in einer Sauerkirsch-anlage. Mitt. biol. BundAnst. Ld. u. Forstw. Berlin-Dahlem 121: 162-167
- STACE-SMITH, R., 1960: Current status of bramble virus. Can. Pl. Dis. Surv. 40: 24-42
- STACE-SMITH, R., 1962: Studies on Rubus virus diseases in British-Columbia. VIII. Raspberry leaf curl. Can. J. Bot. 40: 651-657

- STELLMACH, G., BERCKS, R., 1963: Untersuchungen an Rebenvirosen: Nachweis des Tomatenschwarzringflecken-Virus (tomato black ring virus) in kranken Stöcken der Sorte ARAMON x RIPARIA 143 A.M.G. (Amerikanerrebe). Phytopath. Z. 48: 200-202
- STOLLE, G., SCHÖNBERG, G., 1960: Erfahrungen mit der Stecklingsvermehrung unter Sprühnebel. Der Dt. Gartenbau 7: 122-124
- STRETCH, A.W., 1969: zit. in NYLAND, G., GOHEEN, A.C.: Heat therapy of virus diseases of perennial plants. A. Rev. Phytopath. 7: 331-354
- TAHAMA, Y., 1964: Studies on the dwarf disease of mulberry trees. VIII. Recovery by heat treatment. Ann. Phytopath. Soc. Japan 29: 39-42
- TAYLOR, C.E., 1962: Transmission of raspberry ringspot virus by *Longidorus elongatus* (de Man) (Nematoda: Dorylaimidae). ~~Virology~~ 17: 493-494
- TAYLOR, C.E., CHAMBERS, J., 1969: Effects of insecticide treatments on aphid populations and on spread of latent viruses in raspberry cane nurseries. Hort. Res. 9: 37-43
- TAYLOR, C.E., CHAMBERS, J., PATTULLO, R., 1965: The effect of tomato blackring virus on the growth and yield of Malling Exploit raspberry. Hort. Res. 5: 19-24
- THOMSEN, A.D., 1958: The elimination of virus from potato tissue. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, 156-159
- THOMSEN, A.D., 1968: Frugttræ-vira inaktiveret ved termoterapie. Tidsskr. PlAvl. 72: 141-152
- THUNG, T.H., 1952: Observations on the Rubus stunt disease in raspberry and wild black berries. Tijdschr. Plantenziekten 58: 255-259
- TREMAINE, J.H., ALLEN, W.R., WILLISON, R.S., 1964 a: The extraction of viruses from fruit tree petals. Pl. Dis. Repr. 48: 82-85
- TREMAINE, J.H., ALLEN, W.R., WILLISON, R.S., 1964 b: Serological detection and differentiation of prune dwarf and necrotic ringspot viruses in *Prunus* tissue extracts. Phytopathology 54: 995-998
- VINE, S.J., JONES, O.P., 1969: The culture of shoot tips of hop (*Humulus lupulus* L) to eliminate viruses. ~~J. Hort. Sci.~~ 44: 281-284

- WAGNON, H.K., WILLIAMS, H.E., TRAYLOR, J.A., 1966: An typical reaction of "shiro-fugen" flowering cherry to certain virus-infected plum trees. Pl. Dis. Repr. 50: 278-279
- WALKEY, D.G., WEBB, M.J., 1968: Virus in plant apical meristems. Jnl. gen. Virol. 3: 311-313
- WATERWORTH, H.E., FULTON, R.W., 1964: Variation among isolates of necrotic ringspot and prune dwarf viruses isolated from cherry. Phytopathology 54: 1155-1160
- WAY, R.D., GILMER, R.M., 1963: Reduction in fruit sets on cherry trees pollinated with sour cherry yellows. Phytopathology 53: 399-401
- WEATHERS, L.G., CALAVAN, E.C., 1959: Nucellar embryony - a means of freeing citrus clones of viruses. Proc. Conf. Intern. Organ. Citrus Virologists, 1st, Riverside, Calif. 1958, 197-202
- WEIL, B., 1958: Thermale Inaktivierung von zwei Pflanzenviren. Ein Beitrag zur Wärmetherapie pflanzlicher Viruskrankheiten. Phytopath. Z. 31: 45-78
- WELSH, M.F., NYLAND, G., 1965: Elimination and separation of viruses on apple clones by exposure to dry heat. Canad. J. Pl. Sci. 45: 443-454
- WHITE, P.R., 1934: Multiplication of the viruses of tobacco and aucuba mosaic in growing excised tomato root tips. Phytopathology 24: 1003-1011
- WINTON, L.L., 1968 a: The rooting of liquid-grown aspen callus. Am. J. Bot. 55: 159-162
- WINTON, L.L., 1968 b: Plantlets from aspen tissue cultures. Science 160: 1234-1235
- WITTWER, S.H., BUCOVAC, M.J., 1957: Gibberellins: new chemicals for crop production. Mich. State Univ. Agr. Expt. Sta. Quart. Bull. 39: 469-494
- WITTWER, S.H., 1968: Chemical regulators in horticulture. Hort. Science 3: 1-5, Autumn 1968
- WU, J.H., RAPPAPORT, J., 1961: Kinetic study of the heat inactivation of TMV-infected centers and potentially infectible sites on Nicotiana glutinosa. Phytopathology 51: 823-826

- YARWOOD, C.E., 1967: Adaption af plants and plant pathogens to heat. Molecular Mechanisms of temperature Adaption, Amer. Ass. for the Advancement of Science 1967, 75-89
- YARWOOD, C.E., HOLM, E.W., 1962: Heat adaption in a rust and a virus. Phytopathology 52: 709-712

Herrn Professor Dr. F. G r o ß m a n n sei an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, die vielfältige Unterstützung und das stete Interesse am Fortgang dieser Arbeit gedankt.

Ferner möchte ich mich bei allen Angehörigen der Institute für Phytopathologie und Obstbau für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Dem Hessischen Ministerium für Landwirtschaft und Forsten habe ich für die finanzielle Unterstützung zu danken.

LEBENS LAUF

Am 10. April 1940 wurde ich, Bernhard Helmut Jacob, als Sohn des Diplomlandwirtes und Oberlandwirtschaftsrates Franz Bernhard Jacob und dessen Ehefrau Hanna, geb. Bohnert, in Leipzig geboren.

1946 - 1954 : Besuch der Grundschule

1954 - 1957 : Gärtnerlehre in Leipzig-Markkleeberg

1957 - 1958 : Besuch der Oberschule in Leipzig

1959 - 1960 : Landwirtschaftlich-gärtnerische Tätigkeit
in Kristianstad/Schweden

1960 - 1963 : Besuch der Hessischen Lehr- und Forschungs-
anstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau
(Ingenieurschule) in Geisenheim (Rhg.), Ab-
schluß zum Gartenbauingenieur mit Reifever-
merk

1963 : Tätigkeit als Gartenbauingenieur und Ver-
suchsfeldleiter am Institut für Obstbau der
Justus Liebig-Universität Giessen
(Direktor: Prof. Dr. W. Gruppe)

1963 - 1967 : Gartenbaustudium an der Technischen Hochschule
Hannover, Abschluß als Diplomgärtner

1967 - 1970 : Als Doktorand am Institut für Phytopathologie
der Justus Liebig-Universität Giessen mit der
Anfertigung der vorliegenden Dissertation be-
schäftigt.

